Aus der Medizinischen Klinik und Poliklinik
im Klinikum Charlottenburg der Freien Universität Berlin
Direktor: Prof. Dr. med. D. Lerche

Untersuchungen zur Pharmakokinetik von ^{35}S-Azathioprin an Ratten

Inaugural - Dissertation

zur Erlangung der medizinischen Doktorwürde
an den Medizinischen Fachbereichen
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von

Ute Kapteina

aus Berlin

1975

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41547206_0054

Aus der Medizinischen Klinik und Poliklinik
im Klinikum Charlottenburg der Freien Universität Berlin
Direktor: Prof. Dr. med. D. Lerche

Untersuchungen zur Pharmakokinetik von ^{35}S-Azathioprin an Ratten

Inaugural - Dissertation

zur Erlangung der medizinischen Doktorwürde
an den Medizinischen Fachbereichen
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von

Ute Kapteina

aus Berlin

Referent: Professor Dr. med. I. Schlicht

Korreferent: Professor Dr. N. Rietbrock

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen
Fachbereiche der Freien Universität Berlin

Promoviert am: 19.8. 1975

Meiner Großmutter Frau Hedwig Fiege gewidmet

Inhalt

		Seite
EINLEITUNG		
1)	Geschichte	1
2)	Metabolismus	2
3)	Pharmakokinetik	3
4)	Wirkung, Nebenwirkung, Wirkungsmechanismus	5
5)	Klinische Bedeutung	8
PROBLEMSTELLUNG		1o
METHODIK		
1)	Ganzkörperautoradiographie	12
2)	Organradioaktivitätsmessung	14
3)	Untersuchungen zur Applikationsform von Azathioprin	16
4)	Tierhaltung	2o
5)	Tetrachlorkohlenstoffschädigung	2o
6)	Versuchsgruppen	22
ERGEBNISSE		
	Voruntersuchungen	24
I.	Ganzkörperautoradiographie	25
1)	intravenöse Gabe beim gesunden Tier (therapeutische Dosis)	25
2)	intravenöse Gabe beim gesunden Tier (Tracerdosis u. mehrfach therapeutische Dosis)	29
3)	orale Gabe beim gesunden Tier	3o
4)	intravenöse Gabe beim CCl_4-geschädigten Tier	3o
II.	Organradioaktivitätsmessung	37
1)	Verteilung des ^{35}S im Tier	37
2)	Zeitlicher Verlauf des ^{35}S-Spiegels in Organen und -flüssigkeiten	43
III.	Zusammenfassung der Einzelergebnisse von Ganzkörperautoradiographie und Organmessung	53
DISCUSSION		57
ZUSAMMENFASSUNG		62
LITERATUR		64

E I N L E I T U N G

1) Geschichte

Azathioprin, das Imidazolylderivat des 6-Mercaptopurins, wurde im Rahmen eines 1958 begonnenen Programms entwikkelt, das zum Ziel hatte, durch Substitution am Molekül des 6-Mercaptopurin eine verzögerte Freisetzung der wirksamen Substanz zu erreichen. 1959 erschienen erste Veröffentlichungen von E l i o n[1] und H i t c h i n g s[2] zur Pharmakokinetik von Azathioprin ^{35}S und zu seiner Wirksamkeit als Cytostaticum. Dabei wurde erstmals erwähnt, daß unter besonderen Bedingungen (bei oraler Gabe bei der Maus und nur bei einigen Tumoren) Azathioprin gegenüber 6-Mercaptopurin einen günstigeren chemotherapeutischen Index aufwies.
Angeregt durch die Untersuchungen von S c h w a r t z[3] über die Hemmung der Antikörperbildung durch 6-Mercaptopurin wies N a t h a n 1961[4] im Rahmen einer vergleichenden Untersuchung verschiedener Cytostatica u.a. die starke immunsuppressive Wirkung von Azathioprin nach. Auch in seiner Versuchsanordnung bestätigte sich die im Vergleich zu 6-Mercaptopurin höhere Wirksamkeit von Azathioprin schon in geringeren Dosen bei verminderter Toxizität. Diese Überlegenheit von Azathioprin wurde im gleichen Jahr von C a l n e[5] klinisch bei Nierentransplantationen an Hunden bestätigt.
Ebenfalls 1961 erschien eine erste zusammenfassende Arbeit E l i o n s[6] über chemische Eigenschaften, Wirkung , Toxizität und Metabolismus von Azathioprin. R u n d l e s[7] veröffentlichte im gleichen Jahr erste klinische Ergebnisse beim Menschen in der Therapie von Leukämie sowie der einiger sog. Autoimmunkrankheiten mit Azathioprin.
Es folgte eine Fülle von Veröffentlichungen über klinisch therapeutische oder durch die Klinik angeregte experimentelle Untersuchungen mit Azathioprin besonders auf dem Gebiet der sog. Autoimmunkrankheiten. Demgegenüber erschienen seit 1961 nur wenige theoretische Arbeiten.

C h a l m e r s[8] legte Ergebnisse zur Pharmakokinetik und zum Metabolismus von Azathioprin vor. E l i o n[9] und R u n d l e s[10] wiesen mögliche Angriffspunkte der Thiopurine im Purinstoffwechsel auf. 1972 stellte G e r e b t z o f f[11] in einer zusammenfassenden Arbeit u.a. die bislang erreichten Ergebnisse der Forschung über Metabolismus, Wirkungsmechanismus und klinische Erfolge der Thiopurine dar.
Eine offene Frage blieb u.a. die Erklärung der besonderen Wirkung von Azathioprin im Vergleich zu 6-Mercaptopurin. 1972 veröffentlichte E l i o n[12] dazu eine Gegenüberstellung von Azathioprin und 6-Mercaptopurin und verfolgte über längere Zeit den Metabolismus des Imidazolylrestes von Azathioprin. Eine befriedigende Erklärung der Besonderheit von Azathioprin steht aber zur Zeit noch aus.

2) Metabolismus

Zum Metabolismus von Azathioprin wurden vor allem von der Gruppe um E l i o n umfangreiche Untersuchungen vorgelegt. In einer ersten zusammenfassenden Untersuchung 1961[6] beschrieb sie, daß Azathioprin in vivo fast vollständig metabolisiert werde. Sie betonte die Bedeutung von Sulfhydrylgruppen in vivo für die Spaltung des Azathioprin-Moleküls in 6-Mercaptopurin und den Imidazolyl-Rest. 1972 ergänzte sie[13] -gestützt auf Untersuchungen von D e M i r a n d a und C h u[14]- daß für diese Spaltung zusätzliche Aminogruppen verantwortlich seien. Sie wies nach, daß in vivo die Spaltung von Azathioprin überwiegend zwischen dem Schwefelatom und dem Imidazolyl-Rest stattfindet, zu einem geringeren Anteil jedoch auch zwischen dem Schwefelatom und dem Purinring. Einen anderen Abbauweg von Azathioprin ohne Freisetzung von 6-Mercaptopurin beschrieb C h a l m e r s[8]. Er wies die Bildung von 8-Hydroxy-Azathioprin als Zwischenprodukt nach vor der Abspaltung des Imidazolyl-Restes. Anstelle von 6-Mercaptopurin entstand so 8-Hydroxy-6-Mercaptopurin.

Entscheidende Wirkung auf den Purinstoffwechsel soll Azathioprin über das freigesetzte 6-Mercaptopurin gewinnen. Es sei deshalb auf die umfangreichen Arbeiten zum Intermediärstoffwechsel von 6-Mercaptopurin verwiesen, die von E l i o n[9], R u n d l e s[10] und G e r e b t z o f f[11] vorgelegt wurden. Als wichtigste Angriffspunkte von 6-Mercaptopurin bzw. Thio-Inosin-Monophosphat im Purinstoffwechsel gelten die Adenyl-Succinat-Synthetase, die Inosinat-Dehydrogenase und die Phospho-Ribosyl-Pyrophosphat-Amido-Transferase. Diese Enzyme stellen aufgrund ihres geringen Vorkommens im Organismus entscheidende Engpässe in der Synthese von AMP und GMP dar, sowie in der de novo Synthese der Purine.

E l i o n[15] [9] beschrieb zwei Abbauwege von Azathioprin über 6-Mercaptopurin, einen oxydativen, der unter der Wirkung von Xanthinoxydase zu 6-Thioharnsäure führt, und einen zweiten mit primärer Methylierung über verschiedene 6-Methyl-Thiopurine zum anorganischen Sulfalt. Eine direkte Bildung von Sulfat aus 6-Thioharnsäure konnte nur bei der Maus nachgewiesen werden. Im Urin wurden diese Hauptmetaboliten neben 6-Mercaptopurin und Spuren von Azathioprin bereits 1961 von E l i o n[6] nachgewiesen.
C h a l m e r s[16] beschrieb 1967 als weiteren Urinmetaboliten 1-methyl-4-nitro-5-thio-Imidazol. Der Verbleib des Imidazolyl-Restes wurde 1972 von E l i o n[13] untersucht. Sie fand Anhalt für eine Verbindung dieses Teiles des Azathioprin-Moleküls mit der Aminosäure Glycin.

3) Pharmakokinetik

Zur Pharmakokinetik von Azathioprin liegen weniger, z.T. widersprüchliche Untersuchungen vor. E l i o n[6] [13] wies die gute Resorption von Azathioprin nach oraler Gabe nach. Einen maximalen Plasmaspiegel fand sie zwei Stunden nach oraler Gabe von ^{35}S-markiertem Azathioprin. Bei Gabe von ^{14}C-markiertem Azathioprin - der Imidazolylrest wurde hier markiert - fand sie einen maximalen Plasmaspiegel der Radioaktivität erst nach vier Stunden. Das Absinken der

Serumaktivität auf die Hälfte des Maximalwertes konnte nach ihren Untersuchungen bei ^{35}S-markiertem Azathioprin nach fünf Stunden, bei ^{14}C-markiertem Azathioprin nach ca. zehn Stunden festgestellt werden. In Abweichung von diesen Ergebnissen beschrieb B a c h [17] maximale Serumradioaktivität dreißig bis sechzig Minuten nach oraler Gabe von ^{35}S-Azathioprin. Das zeitliche Auftreten dieses Maximum war unabhängig davon, ob Azathioprin oral oder parenteral verabreicht wurde. Darüber hinaus wies B a c h an Hand der "Rosettenhemmungsaktivität" nach, daß diese Fähigkeit nach Gabe von Azathioprin etwas später als die Radioaktivität, nämlich nach sechzig Minuten, ihr Maximum im Serum erreicht. Er deutete dieses Ergebnis so, daß die Verzögerung der maximalen Rosettenhemmungsaktivität durch Metabolisierungsprozesse des Azathioprin bedingt sein könne.
Zur Verteilung von ^{35}S-Azathioprin im Körper beschrieb E l i o n [12], daß im Zeitraum von null bis zwei Stunden nach intraperitonealer Gabe bei der Maus höchste Aktivitätsanreicherungen in Darm und Leber auftraten. Sie überstiegen den Plasmaspiegel um das 1.5 -bis 2-fache. Nach zwei bis vier Stunden fand sie höchste Radioaktivität im Darm (entsprechend dem dreifachen Plasmaspiegel) und gleiche bzw. leicht unter dem Plasmaspiegel liegende Radioaktivität in Niere, Milz, Lunge und Muskulatur bei fehlender Anreicherung im Zentralnervensystem.
Im 24-Stunden-Urin fand E l i o n [13] nach oraler Gabe von ^{35}S-markiertem Azathioprin 5o %, im 48-Stunden-Urin 7o % der Gesamtradioaktivität. Nach oraler Gabe von ^{14}C-markiertem Azathioprin (Markierung des Imidazolyl-Restes) konnte sie demgegenüber im 24-Stunden-Urin nur 2o %, im 48-Stunden-Urin 37 % nachweisen. Da E l i o n [13] in ihrer vergleichenden Untersuchung von Azathioprin und 6-Mercaptopurin keinen Unterschied im zeitlichen Auftreten der einzelnen Urinmetaboliten beschrieb, scheint es berechtigt, auf entsprechende Untersuchungen mit 6-Mercaptopurin hinzuweisen: Nach intravenöser Gabe von 6-Mercaptopurin fand sie [9] ein Maximum der Ausscheidung von 6-Mercaptopurin und Thioharnsäure nach einer Stunde, ein Maximum der Ausscheidung von anorganischem Sulfat nach fünf Stunden. Im An-

schluß an orale Applikation wies der Urin nach vier Stunden die Maxima für 6-Marcaptopurin und Thioharnsäure auf, nach mehr als sechs Stunden die für anorganisches Sulfat und andere Metaboliten. Nach C h a l m e r s[16] wurde nach oraler Gabe von Azathioprin ein Maximum der Thioharnsäure-Ausscheidung und der Ausscheidung von 1-methyl-4-nitro-5-thio-Imidazol nach zwei Stunden nachgewiesen. Im Stuhl fand E l i o n[13] 48 Stunden nach oraler Gabe von ^{35}S-Azathioprin 12 % der Gesamtradioaktivität. Sie vermutete hierin einen nicht resorbierten Rest der Medikation. (Eine weitere Arbeit wurde 1973 von B e c k e r et al[18] angekündigt. Sie fanden bei der Ratte maximale Serumradioaktivität eine Stunde nach oraler Gabe von ^{35}S-Azathioprin. Im Urin wurde höchste Radioaktivität nach vier Stunden nachgewiesen. Beim Menschen lag die maximale Serumkonzentration nach oraler Applikation bei zwei Stunden.) Zur Frage einer veränderten Pharmakokinetik von Azathioprin bei Leberschaden zeigte B a c h[17], daß nach Gabe von ^{35}S-Azathioprin der Serumaktivitätsgipfel beim Patienten mit Leberschaden keine Abweichung zu dem gesunder Kontrollpersonen aufwies. Allerdings fand er, je nach Schweregrad des Leberschadens, eine Veränderung bzw. ein völliges Fehlen der Rosettenhemmungsaktivität. Auch B e c k e r et al[18] fanden in ihren Untersuchungen mit markiertem Azathioprin bei Leberkranken keine Abweichungen zu gesunden Kontrollpersonen.

4) Wirkung

Azathioprin ist ein dem 6-Mercaptopurin vergleichbar stark wirksames Cytostaticum, Antiphlogisticum und Immunsuppressivum. Als Cytostaticum aus der Gruppe der Purinantagonisten zeigte es sich seinerzeit wie andere Thiopurine in der Therapie der Leucosen geeignet, da es in therapeutischen Dosen primär die Granulopoese und die Bildung primitiver lymphoider Elemente hemmt, ohne wesentlich die Thrombocyten- und Erythrozytenzahl zu beeinflussen[7]. Stärkste immunsuppressive Wirkung zeigt Azathioprin wie

alle Antimetaboliten, wenn es in der induktiven Phase der Immunreaktion appliziert wird.[19] N a t h a n[4] wies so erstmals die Hemmung der Bildung zirkulierender Antikörper nach Antigen- und Azathioprin-Gabe nach.
Die antiphlogistische Wirkung von Azathioprin beruht wie die des 6-Mercaptopurins auf der Hemmung mononukleärer Entzündungszellen sowie auf einem antiexsudativen Faktor: P a g e[20] hatte erstmals nach 6-Mercaptopurin-Gabe das Ausbleiben von Lymphocyten am Entzündungsort nachgewiesen. P e r i n g s[21] bestätigte diese auch von Azathioprin vermutete Wirkung und wies zusätzlich eine reduzierte Exsudatmenge nach Azathioprin-Gabe am Entzündungsort nach. F o r b e s[22] wies in vitro nach, daß 6-Mercaptopurin und Azathioprin wie die Pyrazolidin-Derivate zu einer Hemmung der Proteinsynthese in Lymphocyten führen. Andere, als Immunsuppressiva bekannte Substanzen wie Cyclophosphamid zeigten keine derartige Wirkung.

Nebenwirkungen

Unter den Nebenwirkungen besonders bei oraler Applikation von Azathioprin in therapeutischen Dosen sind Anorexie, Nausea und Erbrechen bekannt. Als Folge der immunsuppressiven Wirkung wird erhöhte Infektanfälligkeit beschrieben. Vereinzelte letale Komplikationen als Folge der cytostatischen Wirkung der Substanz auf das Knochenmark sind Sepsis und thrombocytopenische Blutung.
Diskutiert wird zur Zeit noch eine mögliche, jedoch auch anderen Cytostatica eigene cancerogene Wirkung[23] von Azathioprin.
Ebenfalls nicht abgeschlossen ist die Diskussion über eine lebertoxische Wirkung von Azathioprin. S t a r z l[24] beschrieb den Anstieg von alkalischer Phosphatase und von Transaminasen, sowie histologisch zentrale Nekrosen und Gallethromben in der Leber nach Azathioprin-Gabe. Diese Beobachtungen, einschließlich Bilirubinanstieg, wurden mit Betonung des einen oder anderen Leberparameters auch von anderen Autoren beim Menschen[25) 26) 27] und im Tier-

experiment[29] bestätigt. Z a r d a y[28] beschrieb einen schweren Leberschaden mit Zelldegeneration ohne Entzündungszeichen und Tod durch Blutung bei abnormen Gerinnungsfaktoren unter Azathioprin-Therapie. Es wurden weitere Beobachtungen von Lebercoma unter Azathioprin-Gabe bei Lebererkrankung zitiert[27].

R e u b e r[30] fand eine erhebliche Verstärkung einer Lebercirrhose bei Ratten, denen neben Tetrachlorkohlenstoff zusätzlich Azathioprin verabreicht wurde. Eine ähnliche Potenzierung der CCl_4-Wirkung hatte schon M c L e a n an der Rattenleber bei Zugabe von Phenobarbital beobachtet. B r u n n e r et al 31) wiesen nach, daß Azathioprin nur in höheren Dosen toxisch auf die Rattenleber wirkt. Bei niedriger Dosierung konnten sie dagegen einen Anstieg der gleichen mikrosomalen Enzyme nachweisen, die auch unter der Wirkung von Phenobarbital stimuliert werden können. Es sei noch verwiesen auf die Arbeiten über den DNS-, RNS- und Proteingehalt der Rattenleber nach Hepatektomie unter der Wirkung von Azathioprin, die von der Gruppe um v a n V r o o n h o v e n und M a l t 32) 33) vorgelegt wurde. M a l a m u d 33) führte unter anderem aus, daß zwar der Mitoseindex durch Azathioprin nach Hepatektomie vermindert wird, aber dennoch eine Zunahme des Lebergewichtes stattfindet. Er führte das auf eine Hypertrophie der Leberzellen zurück, die er mit Zunahme des Zelldurchmessers und Zunahme des Verhältnisses von RNS bzw. Protein zu DNS nachwies.

Wirkungsmechanismus

Über den Wirkungsmechanismus von Azathioprin (wie auch von 6-Mercaptopurin) besteht noch weitgehend Unklarheit. E l i o n[9] vermutete anhnad ihrer Untersuchungen über den Intermediärstoffwechsel der Thiopurine eine Störung der DNS und RNS-Synthese mit Chromosomenbrüchen beim Einbau abnormer Nukleotide, und Verhinderung oder Störung der Bildung oder Funktion von Coenzymen (NAD und CoA) und über diesen Mechanismus empfindliche Störung des Zellstoffwechsels. H i t c h i n g s[19] stellte 1963 die Vermutung auf, daß die Immunsuppression durch Azathioprin auf der selektiven Zerstörung eines spezifischen Zellklonus beruhen könnte, der für die Immunreaktion verantwortlich sei. Er zitierte in diesem Zusammenhang die Beobachtung von P a g e[34], daß 6-Mercaptopurin z.B. bei voller antiin-

flammatorischer Wirkung zu keiner Veränderung des weißen Blutbildes führt. Gesichert scheint, daß 6-Mercaptopurin und Azathioprin bei der Immunsuppression und bei der Entzündungshemmung das lymphocytär-plasmazelluläre System besonders beeinflussen. P a g e beobachtete nicht nur das Ausbleiben von Lymphocyten am Entzündungsort, sondern wies auch erstmals den Rückgang rundzelliger Infiltrate bei chronisch-aggressiver Hepatitis unter 6-Mercaptopurin-Therapie nach. Bei Hauttransplantationen konnte unter Thiopuringabe das Ausbleiben einer Proliferation im Zentrum regionaler Lymphknoten beobachtet werden [11].
Auch über die besondere Wirkungsweise von Azathioprin im Vergleich zu 6-Mercaptopurin besteht noch Unklarheit. E l i o n[15] und C h a l m e r s[16] berichteten über den Verlust der typischen Merkmale von Azathioprin zugunsten einer dem 6-Mercaptopurin entsprechenden Wirkung nach zusätzlicher Gabe von Glutathion zur Azathioprin-Medikation. C h a l m e r s[16] deutete diese Beobachtung derart, daß Azathioprin möglicherweise vor seiner Spaltung von immunologisch kompetenten Zellen besser inkorporiert werden könne als sein Spaltungsprodukt 6-Mercaptopurin. E l i o n[13] vermutete, daß aufgrund seiner Bereitschaft zur Reaktion mit Amino- oder Sulfhydryl-Gruppen Azathioprin evtl. Proteinabschnitte blockiere, die für die Antigenerkennung erforderlich sind.

5) Klinische Bedeutung

Klinische Bedeutung gewann Azathioprin als Immunsuppressivum und Antiphlogistikum.

Bei steigendem Bedarf der Klinik an Medikamenten dieser Wirkgruppe - entsprechend den Fortschritten in der Organtransplantation und der wachsenden Aufmerksamkeit für die sog. Autoimmunkrankheiten - standen nur wenige Medikamente zur Verfügung. Es waren vor allem die Corticosteroide und einige Antimetaboliten wie 6-Mercaptopurin, deren Wirksamkeit häufig nicht überzeugte oder durch toxische Nebenwirkungen stark beeinträchtigt wurde. Hier verdrängte Azathioprin zunächst das ihm - bezüglich der Toxizität - unterlegene 6-Mercaptopurin und ersetzte z.T. erfolgreich die Corticosteroide in bislang therapieresistenten Fällen.

Jedoch empfehlen noch heute viele Autoren eine Kombination von Corticosteroiden und Azathioprin, eine Tatsache, die die Bewertung von Azathioprin in der Therapie erschwert.

Häufigste Anwendungsbereiche von Azathioprin sind Organtransplantationen, vor allem der Niere und die sog. Autoimmunkrankheiten neben anderen Erkrankungen bisher ungeklärter Genese. Meistgenannt für die Azathioprin-Therapie sind hier die chronische Glomerulonephritis und das nephrotische Syndrom, die chronisch aggressive Hepatitis und primär biliäre Cirrhose, Lupus erythematodes disseminatus, Colitis ulcerosa und M.Crohn. Daneben werden Versuche der Azathioprin-Therapie bei rheumatischen Arthritiden, bei Polyneuropathien, idiopathischer thrombocytopenischer Purpura, Pemphigus vulgaris, Psoriasis u.a. beschrieben.
Die chronisch aggressive Hepatitis ist nicht nur eine der am frühesten entdeckten Indikationsbereiche für Azathioprin - angeregt durch die Erfolge von P a g e[34] mit 6-Mercaptopurin - sondern auch eine Erkrankung,bei der Azathioprin auch häufigste Anwendung findet. Entsprechend umfangreich ist auch die Literatur. Demgegenüber sind die Kenntnisse über die Stellung der Leber im Metabolismus von Azathioprin über die Wirkung von Azathioprin auf die gesunde und erkrankte Leberzelle spärlich. Hier mag eine Erklärung für die z.T. stark abweichenden klinischen Erfolge von Azathioprin in der Therapie der chronisch-aggressiven Hepatitis liegen.

P R O B L E M S T E L L U N G

Die breite Anwendung von Azathioprin in der Therapie einerseits, andererseits aber die geringen, z.T. wenig übereinstimmenden Kenntnisse seiner Pharmakokinetik im gesunden Organismus wie auch unter pathologischen Bedingungen, gab den Anstoß zu der vorliegenden Arbeit.
Im Tierversuch mit ^{35}S-markiertem Azathioprin wurde versucht, einen Beitrag zu folgenden Fragen der Pharmakokinetik von Azathioprin zu leisten.

A) <u>im gesunden Organismus:</u>

1) Sind bislang unbeachtete Gewebe am Stoffwechsel von Azathioprin beteiligt?

Diese Frage erschien angesichts der vermuteten cancerogenen Wirkung von Azathioprin bedeutend.
Die Ganzkörperautoradiographie wurde im Hinblick auf diese Frage gewählt, da sie die Simultanerfassung aller Gewebe ermöglicht und gegenüber Methoden, die eine Gewebshomogenisierung voraussetzen, auch feinste Strukturen zur Darstellung bringt.

2) Welche Bedeutung hat der Magendarmtrakt für die Verteilung von Azathioprin?

Diese Frage war in bisherigen Untersuchungen zur Pharmakokinetik kaum berücksichtigt worden, obwohl bereits 1959 auf hohe Radioaktivitätsanreicherung im Darm nach intraperitonealer Gabe schwefelmarkierten Azathioprins hingewiesen wurde[1)].
Zur Klärung dieser Frage wurde im überwiegenden Teil der Versuche die intravenöse Applikationsform gewählt.

3) Ist die Azathioprin-Verteilung im Organismus wesentlich abhängig vom Alter der Versuchstiere (so interessierte z.B. der juvenile Thymus) oder abhängig von der Dosis?

4) Inwiefern weicht die Azathioprin-Verteilung nach ora-

ler Gabe ab von der nach intravenöser Applikation?

B) Im Organismus mit gestörter Leberfunktion interessierten folgende Fragen:

1) Findet sich hier eine abweichende Verteilung des ^{35}S im Gesamtorganismus?

Veränderungen hier erschienen möglich, da in der Leber wichtige Abbauvorgänge vermutet werden[35].

2) Läßt sich schon makroskopisch eine vom Gesunden abweichende intrahepatische Verteilung der Radioaktivität erkennen?

Diese Beobachtung erschien angesichts der Therapie der chronisch aggressiven Hepatitis bedeutend.
Da eine, den menschlichen Verhältnissen entsprechende chronisch aggressive Hepatitis im Tierversuch nicht erzeugt werden kann, entschlossen wir uns zu der Tetrachlorkohlenstoffschädigung der Leber als Modell.

Um die relativen Angaben der Radioaktivitätsverteilung der ganzkörperautoradiographischen Untersuchungen auch quantitativ zu erfassen, wurden die Untersuchungen ergänzt durch Messung der Radioaktivität in Gewebehomogenaten.

METHODIK

1) Ganzkörperautoradiographie

Das Anfertigen der Ganzkörperautoradiographien richtete sich im wesentlichen nach der von Ullberg[36] entwickelten Technik. Die dem Körpergewicht entsprechend gewählte ^{35}S-Azathioprin-Dosis wurde in die Schwanzvene des mit Äther narkotisierten Tieres injiziert. In den Versuchen mit oraler Applikation wurde die verwandte Azathioprin-^{35}S-Suspension per Schlundsonde der nicht narkotisierten Ratte verabreicht.
Im gewünschten Intervall nach der Injektion wurden die Ratten tief narkotisiert und in einem Aceton-Kohlensäure-Gemisch bei -78° C getötet. Um rasch und vollständig sämtliche Diffusionsvorgänge zu unterbinden, wurden die Tiere vorübergehend auf Trockeneis weitergefroren, ehe sie im Kühlraum bei -2o bis -3o° C zum Temperaturausgleich für mindestens vierundzwanzig Stunden gelagert wurden.
Vor dem Einbetten wurden Schwanz und Extremitäten abgeschnitten. Um die großen, adulten Ratten ebenfalls auf den zur Verfügung stehenden Mikrotomtischen schneiden zu können, mußten hier auch die Köpfe abgetrennt und auf einem gesonderten Mikrotomtisch geschnitten werden. Als Einbettungsmasse diente Schabefleisch. Um einen festen Kontakt zwischen Tier und Einbettungsmasse zu erreichen, wurden die Ratten grob enthaart und mit Wasser angefeuchtet. Nach dem Einbetten in Seitenlagerung wurden die Tiere erneut auf Trockeneis mindestens drei Stunden lang gefroren. Nach einem groben Anschnitt mit der Kreissäge wurden die Ganzkörperschnitte auf einem K-Mikrotom der Firma Jung im Kühlraum bei -18 bis -25° C hergestellt. Aufgefangen wurden die 3oμ dicken Schnitte auf einer Klebefolie (Scotch-Film der Firma 3 M, Art. Nr. 81o, 5o mm x 66 mm). Die Schnitte wurden im Kühlraum gefriergetrocknet - etwa drei Tage lang - und anschließend bei Raumtemperatur nachgetrocknet. Pro Versuchstier wurden ca. 16 derartige Schnitte angefertigt. Um artefizielle Schwärzungen des Röntgenfilmes durch den Klebestoff des verwandten Scotch-Filmes

zu vermeiden, wurden gewebearme Körperabschnitte (z.B. intraabdominelles Fettgewebe, Ascites) mit Talcum Puder abgedeckt. Nach Aufkleben der Schnitte auf kleine Glasplatten, wurden sie mit ^{204}Thallium-untermischter Tinte beschriftet.

Die Schnitte wurden in der Dunkelkammer auf einen CHRONEX -2 Röntgenfilm der Firma D u P o n t aufgelegt und in Pressen unter Druck bei -1o bis -2o° C exponiert. Die Expositionszeit wurde so variiert, daß eine optimale Differenzierung der Tierstrukturen möglich wurde. Zur Entwicklung wurde die Lösung CHRONEX TD der Firma D u P o n t verwandt und streng nach ihrer Anleitung verfahren. Nach regelrechtem Fixieren, Wässern und Trocknen erfolgte die Auswertung der Filme.

Verglichen wurden die Schwärzungen auf dem Röntgenfilm, die ^{35}S durch Anreicherung in den jeweiligen Tierstrukturen bewirkt hatte. Als mittlerer Bezugswert wurden die Schwärzungen (+) bis (++) des Blutes als ursprünglicher Aktivitätsträger gewählt. Größte Schwärzungen (++++) wiesen Organe auf mit der relativ höchsten ^{35}S-Aktivität bezogen auf das untersuchte Tier. Zur Auswertung lagen ca. zweihundert derartiger Positive vor. (Pro Versuchstier wurden mindestens sechs Positive angelegt.)

Die Darstellungen in dieser Arbeit wurden nach herkömmlichem Verfahren im Negativ abgelichtet und zum Teil ausschnittsweise vergrößert.

2) Organradioaktivitätsmessung

Injektionslösungen

Es wurden dreimal Azathioprin-Lösungen einer spezifischen Aktivität von 7 mCi/mmol zur Injektion für je acht bis zehn Ratten angesetzt. Diesen Lösungen wurde zunächst eine Probe als Standard entnommen und bis zum Zeitpunkt der Probenmessung bei -25° C eingefroren. Es wurde im weiteren Verlauf die dem jeweiligen Versuchstier entsprechende Injektionsmenge aufgezogen. Bis zum Spritzen des nächsten Tieres wurde die Lösung vor Verdunstung geschützt bei 35°C im Brutschrank aufbewahrt. Das letzte Tier jeder dieser drei Gruppen mit gleicher Azathioprin-Lösung wurde spätestens acht Stunden nach dem Ansetzen der Lösung gespritzt.

Spritzen, Töten und Präparation der Ratten

Den Tieren wurde unter Äthernarkose die Azathioprin-Lösung in die Schwanzvene injiziert. Ratten mit einer Versuchsdauer von mehr als fünfzehn Minuten wurden anschließend zur Gewinnung von Stuhl und Urin in einen Stoffwechselkäfig gesetzt. Nach Ablauf der jeweiligen Versuchszeit wurden die Tiere unter erneuter tiefer Äthernarkose durch einseitiges Eröffnen der A. Carotis comm. und V. jugularis in Kopftieflagerung entblutet.

Das Blut wurde direkt in Spitzröhrchen aufgefangen, zentrifugiert und das Serum abpipettiert. Evtl. vorhandener Ascites wurde nach Punktion mit einer Spritze und Knopfsonde abgezogen. Präpariert wurden nacheinander Magen-Darmtrakt, Milz, Niere, Ovarien, Leber, Sternal- und Rippenknorpel, Thymus, Lungen, Herz und Gehirn. Magen, Dünn- und Dickdarm wurden getrennt weiterpräpariert. Ihre Inhalte wurden in Petrischalen ausgestrichen und gefriergetrocknet. Magen-, Dünn- und Dickdarmwand wurden zur Befreiung grober Reste des Inhaltes kurz in Aqua dest. getaucht und zwischen grobem Filterpapier unter einmaligem leichtem Druck abgetrocknet. Alle Organe wurden in toto feucht gewogen, Flüssigkeiten in ml gemessen. Die Feuchtgewichte von Magen- und Darminhalt wurden aus der Gewichtsdifferenz des gefüllten und entleerten Hohlorgans gemessen.

Aufbereitung der Organe

Zur chemischen Homogenisierung der Gewebe wurde das Präparat 'Soluene-350' der Firma Packard verwandt.

Eingewogen wurden in die Probenfläschchen von Mageninhalt, Dünn- und Dickdarminhalt und Stuhl je 0.02 g Trockengewicht von Magen, Dünn- und Dickdarm und Gehirn je 0.15 g Feuchtgewicht, von allen übrigen Organen 0.1 g Feuchtgewicht. Serum und Ascites wurden mit 0.2. ml einpipettiert. Von jedem Organ oder Inhalt wurde eine Doppelbestimmung angesetzt. Zur Lösung gebracht wurden die eingewogenen Proben nach Zugabe von 1 ml 'Soluene-350' im Brutschrank bei 60° C.+
Auf eine Messung des Knorpels mußte verzichtet werden, da er sich in 'Soluene-350' nicht löste.
Zum Bleichen wurden stark gefärbte Proben nach Zugabe von 2 ml Wasserstoffsuperoxyd 30% und 2 ml Isopropanol erneut in den Brutschrank gebracht.
Urinproben wurden ohne weitere Vorbehandlung einpipettiert.

Allen Proben wurde dann 10 ml des Scintillators 'Dimilume' der Firma P a c k a r d zugegeben.++

Messung

Zur Messung wurde das Flüssigsszintillationsspektrometer 'Betaszint BF 5000' der Firma B e r t h o l d verwandt, dem der Tischrechner 'Diehl algotronic' und der Lochstreifen Programmleser 'Diehl dilector' angeschlossen war.
Die Bestimmung der Löscheffekte erfolgte durch Zugabe eines internen ^{35}S-Standards zu jeder Probe. Die zugegebenen Impulse entsprachen mindestens der Hälfte der probeneigenen Impulse.+++

+ Sedimente bei Magen-und Darminhalten und Stuhlproben konnten auch bei längerer Verweildauer im Brutschrank nicht zur Lösung gebracht werden.

++ Nach Zugabe von Reagenzien und vor der Messung wurden die Proben 12 bis 24 Stunden lang bei Raumtemperatur aufbewahrt zum Abklingen chemischer Löscheffekte und zum Sedimentieren ungelöster Partikel. Unmittelbar vor der Messung wurden die Proben im Meßgerät 30 min. vorgekühlt.

+++ Jeder Meßreihe wurden Nulleffekt und Standardproben beigefügt, die den Organproben entsprechend vorbehandelt worden waren. Jede Probenreihe wurde in zwei Durchgängen gemessen.

Auswertung der Meßergebnisse

Die mittleren Impulse der Organproben wurden durch Multiplikation mit dem Faktor der Zählausbeute korrigiert. Errechnet wurden dann die Impulse pro g Feuchtgewicht, bzw. pro ml Flüssigkeit aller untersuchten Substrate der jeweiligen Ratte.
Um die Meßergebnisse den Ergebnissen der Ganzkörperautoradiographie gegenüberzustellen, wurden die Impulse/ g Tiersubstrat als % der (pro 1oo g) injizierten Impulse ausgedrückt.
Um von den Meßergebnissen auf Ausmaß und Geschwindigkeit der ^{35}S-Ausscheidung schließen zu können, wurden die Impulse im gesamten Organ bzw. -Inhalt ausgedrückt als % der insgesamt injizierten Impulse.

Diese Betrachtung ermöglichte darüber hinaus den Vergleich der Radioaktivitätsanreicherung in Organen oder -Inhalten mit relativ zum Tiergewicht abweichenden Organgewichten. Besondere Bedeutung hat diese Betrachtung im Vergleich der vergrößerten Cirrhoseleber zur normalen Leber bei gleichgewichtigen Ratten.

Als Bezugswert für die Beurteilung der ^{35}S-Konzentration im gesamten Organ (bzw. -inhalt) wurde der prozentuale Anteil der Impulse im gesamten Serum + errechnet.

3) Untersuchungen zur Applikationsform von Azathioprin

Dosiswahl

Über die Höhe einer therapeutisch wirksamen intravenösen Einzeldosis von Azathioprin bei der Ratte liegen in der Literatur keine Angaben vor. Wir orientierten uns an folgenden Hinweisen: E l i o n[6] beschrieb bei der Maus bei 6-maliger intraperitoner Azathioprin-Gabe eine MED von 1 - 12 mg/kg gegen Adeno-Ca 755. Die LD 5o lag bei einmaliger Gabe i.p. bei der Maus bei 65o mg/kg. Da die Ratte offenbar

---

+ Die Gesamtmenge des Rattenserums errechnete sich aus den Normwerten für Blutvolumen pro 1oo g Körpergewicht und dem Hämatokrit des Rattenblutes 37).

empfindlicher reagiert (LD 5o bei einmaliger i.p. Gabe lag bei 31o mg/kg), schien auch eine einmalige Dosis - zumal i.v. appliziert - mit 2o mg/kg im therapeutischen Bereich zu liegen. Die intravenöse Einzeldosis von 2 mg/1oo g Körpergewicht wurde allen adulten Ratten und einer Vergleichsgruppe juveniler Tiere verabreicht. Neben dieser Dosierung wurden zum Vergleich intravenöse Einzelgaben bis zu 14.4 mg/1oo g KG appliziert, in einer Höhe, die wohl bereits im unteren toxischen Bereich liegen dürfte. (Die oral verwandten Dosen waren mit 2 - 3 mg/1oo g KG der meistverwandten intravenösen Dosis vergleichbar.)

Die spezifische Aktivität des verwandten ^{35}S-Azathioprin + soll hier nur am Rande erwähnt werden, da sie die Ergebnisse weder der Ganzkörperautoradiographien, noch die in prozentualen Anteilen der Gesamtaktivität ausgedrückten Ergebnisse der Organmessung beeinflussen. In den Versuchen zur Ganzkörperautoradiographie applizierten wir vorwiegend 25 µ Ci in 2 mg/1oo g KG (entsprechend einer spezifischen Aktivität von 12.5 Ci / mg Az, in kleineren Versuchsgruppen 1oo µ Ci in o.88 - 14.44 mg / 1oo g KG (entsprechend einer spezifischen Aktivität von ca. 144 - 7 µ Ci / mg Az). In den Versuchen zur Messung der Organradioaktivität gaben wir insgesamt in 2 mg 5o µ Ci / 1oo g KG, (entsprechend 25 µ Ci / mg Azathioprin).

Lösungen

Azathioprin wurde zur intravenösen Injektion in Anlehnung an die Lösungsvorschrift von E l i o n[6] mit NaOH aufbereitet. Mit der Wahl von 2 mg/1oog KG als intravenöse Einzeldosis einerseits, der Begrenzung des Injektionsvolumens auf maximal 1 ml andererseits, ergab sich die Schwierigkeit sehr hoher Alkali-Konzentrationen. Noch größer war dieses Problem bei intravenösen Testdosen bis zu 14.4 mg/1oo g KG. Damit bestand die Gefahr der von E l i o n[6] beschriebenen Spaltung von Azathioprin in 6-Mercaptopurin und seinen Imidazolylrest, besonders bei längerem Aufbewahren der Lösung und bei Wärmezufuhr. Außerdem mußte eine Störung im Metabolismus der Tiere durch die Alkalose und eine lokale Gefäßschädigung ausgeschlossen werden.

+ ^{35}S-Azathioprin wurde von der Firma A m e r s h a m code SJ. 192 bezogen. Die Isotopenverdünnung auf die gewünschte spezifische Aktivität wurde von uns durchgeführt mit inaktivem Azathioprin, das uns die D e u t s c h e W e l l c o m e GmbH zur Verfügung stellte.

Bei der Lösung von Azathioprin achteten wir deshalb darauf, nur o.o5 n NaOH (und nur im Einzelfall höherer Testdosen o.o75 n NaOH) zuzufügen. Damit lagen wir unter den von E l i o n beschriebenen kritischen Alkalikonzentrationen von o.1 n NaOH, bei der eine rasche Spaltung von Azathioprin beobachtet wurde. Diese Lösungen wurden, soweit möglich, vor Injektion mit Aqua bidest aufgefüllt und sofort nach Zubereitung injiziert.
Die überwiegend verwandte Azathioprin-Lösung, die in allen Versuchen mit adulten Ratten injiziert wurde, pufferten wir zusätzlich mit 1 m Na_2HPO_4 auf ein pH von 9. Dafür nahmen wir eine Hyperosmolarität gegenüber dem Blut in Kauf. Diese Lösung setzte sich folgendermaßen zusammen:

1.o mg Azathioprin
\+ o.o7 ml o.o5 n NaOH
\+ o.1 ml 1 m Na_2HPO_4 (bei 3o°C)

Chemische Kontrolle der Lösung

Die oben angeführte, bei allen adulten Ratten verwandte Azathioprin-Lösung mußte aus versuchstechnischen Gründen längere Zeit im Brutschrank aufbewahrt werden. Es galt nachzuweisen, ob es unter diesen Bedingungen zu einem merklichen Zerfall von Azathioprin in 6-Mercaptopurin käme. Es wurde dazu eine aufsteigende Papierchromatographie durchgeführt.

Verwandt wurde das Papier S c h l e i c h e r & S c h ü l l 2o43 (b) Mgl. Als Laufmittel diente Dimethylacetamid (12.5 ml), Propylenglycol (2o ml), K_2HPO_4 (o.9 g) ad 1oo ml Aqua bidest.

Aufgetragen wurden je 2oμl) einer frisch zubereiteten ^{35}S-Azathioprin-Lösung, 2) der ^{35}S-Azathioprin-Lösung fünf Stunden und 3) vierundzwanzig Stunden nach Lagerung im Brutschrank bei 35° C. 4) wurde eine frisch bereitete Lösung von ^{35}S- 6-Mercaptopurin + aufgetragen. (Mercaptopurin wurde in äquimolaren Mengen des gleichen Lösungsmittels wie Azathioprin gelöst.) Die Laufzeit der Papierchromatographie betrug fünf Stunden. Nach Lufttrocknung des Chromatogramms

+ ^{35}S- 6-Mercaptopurin wurde von der Firma A m e r s h a m bezogen.

wurden die einzelnen Laufstrecken herausgeschnitten und jeweils in fünf mm breite Streifen geschnitten, die der Reihenfolge nach in Meßfläschchen eingebracht wurden. Nach Befeuchten der Streifen mit Aqua bidest. und Auffüllen der Meßfläschchen mit wasserlöslichem Scintillator (o.o5 g POPOP, 4 g PPO, 12o g Naphthalin, 1 l Dioxan) wurden die Proben im Flüssigzintillationsspektrometer (Betaszint BF 5ooo, B e r t h o l d) gemessen. Aus den Maxima der Radioaktivität wurden für jede Laufstrecke die Rf-Werte ermittelt. Dabei ergab sich für jede Laufstrecke je ein solitäres Aktivitätsmaximum. Die Rf-Werte der Azathioprin-Kontrolllösung, sowie die der wärmeexponierten Azathioprin-Testlösungen zeigten mit o.885 völlige Übereinstimmung. Abweichend dazu lag der Rf-Wert der 6-Mercaptopurin-Kontrolle mit o.747. Er erschien demnach kein wesentlicher Zerfall von Azathioprin durch die Lagerung bei 35° C auch über 24 Stunden entstanden zu sein.

Biologische Kontrollen

Die bei allen adulten Ratten verwandte mit Phosphat gepufferte Azathioprin-Lösung war dem Blut gegenüber deutlich hyperton. Bei exakter Injektionstechnik fand sich jedoch selbst nach zwölf Stunden kein makroskopischer Anhalt für eine stärkere Lokalreaktion im Bereich der Schwanzvene.

Zur Kontrolle der im Einzelfall mit hohen Azathioprin-Dosen verwandten Lösungen mit o.o75 n NaOH wurde die biologische Reaktion der Ratten auf hohe Alkali-Gabe untersucht. Verglichen wurden Astrup-Diagramme von vier Ratten: Einem Kontrolltier wurde je ein Tier 5 Min., dreißig Min. und sechzig Min. nach i.v. Injektion von o.o75 n NaOH in der Dosierung von 1 ml 1oo g KG gegenübergestellt. Die Blutentnahme erfolgte durch Aortenpunktion am tief narkosierten Tier.

Im Astrup-Diagramm schien sich doch eine leichte Verschiebung anzudeuten. Folgende Werte wurden ermittelt:

Intervall zw. Injektion u. Blutentnahme	base-excess	Stand. bicarb.	aktuell pH	pCO_2
5 min	5.6	29.5	7.47	41
3o min	o.8	25.o	7.41	4o
6o min	- o.3	24.1	7.41	38
Kontrolle	12.o	25.5	7.36	48

Es muß jedoch angefügt werden, daß in keinem Versuch derart große Volumina von o.o75 n NaOH injiziert wurden.

4) Tierhaltung

In allen Versuchsgruppen wurden spezifisch pathogenfreie (spf) W i s t a r - Ratten der M u s R a t t u s Ag, Brunnthal bei München, verwandt. Das Körpergewicht aller Tiere lag bei Übernahme zwischen 6o und 8o g. Es wurden ausschließlich weibliche Ratten verwandt, mit Ausnahme von drei männlichen im Versuch mit oraler Azathioprin-Gabe. Die Tiere wurden in Käfigen bis zu maximal fünf Ratten gehalten. Die Nahrung bestand ausschließlich aus A l t r o m i n R15 und Leitungswasser. Beides wurde bis unmittelbar vor dem Töten im Versuch angeboten. Allen Ratten wurde eine Eingewöhnungszeit von mindestens drei Tagen nach dem Transport gewährt. Die adulten Ratten wurden drei Monate und länger derart gepflegt.

5) Tetrachlorkohlenstoffschädigung

Zur Erzeugung einer Leberschädigung wurde den dafür vorgesehenen Ratten alle zwei Tage über eine Schlundsonde Tetrachlorkohlenstoff in einer Dosierung von o.o5 ml CCl_4 / 1oog Tiergewicht verabreicht. Die individuelle Dosis wurde wöchentlich nach Wägung der gekennzeichneten Ratten neu bestimmt. Die CCl_4-Applikation wurde drei Monate lang durchgeführt. Alle Tiere wurden im Verlauf von acht Tagen nacheinander getötet, jeweils am Tag zwischen den CCl_4-Gaben.

Von den dreißig für die CCl_4-Schädigung vorgesehenen Ratten kamen in der ersten Versuchswoche zwei ad exitum und wurden durch zwei Ratten aus der Kontrollgruppe ersetzt. Sechs

weitere Tiere starben im Verlauf der Vorbereitungszeit dieses Versuches und weitere zwei bei der Narkose +. Nur eines dieser Tiere kam durch fehlerhafte Injektionstechnik ad exitum. Bei allen anderen fand sich regelmäßig ein Zurückbleiben hinter dem Gewicht der übrigen geschädigten Ratten, wobei häufig ein sprunghafter Gewichtsverlust bis zu 30 g innerhalb einer Woche etwa 14 Tage ante finem zu beobachten war.

+ Demgegenüber kamen in der Kontrollgruppe von 18 Ratten nur eine spontan und eine bei der Narkose ad exitum.

6) Versuchsgruppen

Ganzkörperautoradiographie

gesunde Tiere

	Zahl	Az.-Dosis	Applikation
adulte	6	2 mg/100g +	i.v.
juvenile	5		
juvenile	2 4	1 mg/100g ++ 9-14 mg/100g	
juvenile	3	3 mg/100g ++	oral

CCl_4 - geschädigte Tiere

	Zahl	Az.-Dosis	Applikation
adulte	6	2 mg/100g +	i.v.

Organradioaktivitätsmessung

	Zahl	Az.-Dosis	Applikation
gesunde adulte	11	2 mg/100g+++	i.v.
CCl_4-geschädigte adulte	15		

\+ 25 µ Ci/100g
++ 100 µ Ci/100g
+++ 50 µ Ci/100g

Zahl der Ratten
in den Gruppen
gleicher Versuchsdauer

Ganzkörperautoradiographie

	5'	15'	30'	60'	2-3h	5-6h	12h	20h
gesunde adulte	1	1	1	1	1	-	1	-
juvenile	-	1	1	-	1	1	-	1
juvenile (Testdosis)	1	1	1	1	1	1	-	-
juvenile (orale Gabe)	-	-	-	1	1	1	-	-
CCl_4-geschädigte adulte	1	1	1	1	1	-	1	-

Organradioaktivitätsmessung

	5'	15'	30'	60'	3h	6h	12h	20h
gesunde adulte	2	2	1	2	2	-	2	-
CCl_4-geschädigte adulte	2	3	3	3	2	-	2	-

E R G E B N I S S E

Voruntersuchungen zur CCl_4-Schädigung

1) Bei der Präparation der durch Tetrachlorkohlenstoff geschädigten Ratten fanden sich als Zeichen der Hepatopathie folgende Abweichungen von der Gruppe der Kontrolltiere:

Bei einem mittleren Körpergewicht der kranken Ratten von 227.73 g ± 3o.66 (gegenüber den Kontrolltieren mit 248.9o g ± 29.32) konnten Lebergewichte von 1o.o7 g ± 2.84 festgestellt werden (im Vergleich zu 8.89 g ± 1.38 Lebergewicht der Kontrolltiere). Bei allen geschädigten Ratten fand sich eine makroskopisch sichtbare Leberverfettung. Die Oberfläche war in zwölf Fällen klein- bis kleinstknotig, in drei Fällen grobknotig verändert. Von acht Ratten konnte Ascites, im Mittel 1.o3 ml gewonnen werden, von einem Tier sogar 51 ml (!). Bei zwei weiteren Ratten konnte zusätzlich Flüssigkeit aus dem Interpleuralspalt abgesaugt werden. Bei vier Ratten war das Serum deutlich ikterisch, bei einem Tier stark getrübt. Alle kranken Ratten wiesen eine deutliche Splenomegalie auf von 1.26 g ± o.33 gegenüber o.69 g ± o.14 der Milzgewichte in der Kontrollgruppe. Bei fünf Tieren war eine ausgeprägte, bei allen anderen eine milde Diarrhoe zu beobachten. Mehr als die Hälfte der kranken Ratten zeigte mangelhafte Körperbehaarung. Darüber hinaus war eine deutliche Vergrößerung der Nieren mit 2.o2 g ± o.43 festzustellen im Vergleich zu 1.53 g ± o.26 Nierengewicht in der Kontrollgruppe.

2) Mikroskopisch zeigten alle Leberschnitte der geschädigten Ratten mäßig bis starke Verfettung, deutlichen bindegewebigen Umbau mit z.T. völlig aufgehobener Läppchenstruktur und Pseudolobulus-Bildung.

I. Ganzkörperautoradiographie

1) Intravenöse Gabe beim gesunden Tier (therapeutische Dosis)

Wegen übereinstimmender Verteilung des radioaktiven Schwefels nach i.v. Gabe von ^{35}S-Azathioprin in einer Dosis von 2 mg/1oo g KG wurden die gesunden juvenilen und adulten Ratten dieser Versuchsgruppe gemeinsam beschrieben.

Unabhängig vom Intervall zwischen Injektionen und Töten, fanden sich konstant folgende Beobachtungen in allen Autoradiographien dieser Ratten:

a) Der radioaktiven Markierung des Blutes [+] (++) vergleichbar war stets die von Herz, Lunge, Nebenniere, Milz und Muskel.

   Erst dreißig Minuten und später post inj. stellte sich das Muskelgewebe etwas schwächer dar.
   In der Milz zeigte sich eine inhomogene Verteilung des ^{35}S, der sich im Bereich der roten Pulpa stärker anzureichern scheint. (S. Abb. 1 und 3)

b) Schwächer als das Blut zeichneten sich stets das Fettgewebe und der Thymus - auch der juvenilen Ratten - ab (+).

c) Höher als im Blut lag die ^{35}S-Konzentration in der Wand einiger herznaher und retroperitonealer Gefäße (Arterien?) (++ - +++), während die Wand großer intrahepatischer Gefäße (Venen?) nicht gegen das Blut abgrenzbar waren. (S. Abb. 6 und 7)

d) In keinem Fall konnte nennenswerte Radioaktivität in Knochenkortikalis, Zentralnervensystem und Bulbus oculi dargestellt werden. Es markierten sich lediglich die gefäßführenden Häute (Plexus chorioidei, Arachnoidea, Retinagefäßen und Uvea) in gleicher Stärke wie das Blut.

[+] Als Radioaktivität des Blutes wurde bei allen Tieren die Markierung der V. cava inf. bezeichnet. Sie ist in der vorliegenden Auswahl nur in Abb. 7 dargestellt. Als Anhalt können hier die Lebervenen dienen.

Die Doppelkonturierung des Bulbus oculi auch nach Absinken der Blutradioaktivität könnte durch eine Markierung der Sklera bedingt sein.

e) Keimdrüsen waren bei allen (weiblichen) Ratten dieser Gruppe nicht mit Sicherheit differenzierbar.

Die Organe und Gewebe, deren radioaktive Markierung in keinem konstanten Verhältnis zu der des Blutes stand, sollen im folgenden gesondert dargestellt werden:

Fünf Minuten post injectionem

Fünf Minuten nach ^{35}S-Azathioprin-Injektion entsprach der Radioaktivität des Blutes (++) unter anderem die in Speicheldrüsen, Knochenmark, Knorpel, Haut und Haaren. Stärker hob sich das Epithel der oberen Atemwege und des Mund- und Rachenraumes ab (+++). Die Leber, Teile des Dünndarmes, sowie ein schmaler Saum in Magen- und Dickdarmwand markierten sich ebenfalls stärker (+++) als das Blut. In einigen Dünndarmabschnitten fand sich hohe ^{35}S-Anreicherung (++++), wobei besonders Zotten sich scharf hervorhoben. Im Lumen des Magens und des Dickdarmes konnte keine wesentliche Radioaktivität festgestellt werden. Dagegen zeigten sich im Dünndarmlumen z.T. spärlich (+), z.T. reichlich (+++) strahlende Partikel. Höchste ^{35}S-Anreicherung wies die Niere auf (++++). Hier war bei geringerer Belichtungszeit eine Aktivitätskonzentration im Nierenbecken zu erkennen.

Fünfzehn Minuten post injectionem (S. Abb. 1)

Während fünfzehn Minuten post injectionem die Radioaktivität im Knorpel weiterhin der des Blutes entsprach (++), markierten sich demgegenüber deutlicher Tränen- und Speicheldrüsen, Haut, Haare und Knochenmark (++ - +++). Im Dünndarm war in größerem Umfang abschnittsweise hohe Strahlung nachweisbar (++ - ++++). Auch im Dünndarmlumen fanden sich deutlich mehr strahlende Partikel (++ - ++++). Die Markierung der übrigen Strukturen war der nach fünf Minuten vergleichbar.

Dreißig Minuten post injectionem (S. Abb. 2)

Dreißig Minuten post injectionem fand sich ebenso wie nach fünfzehn Minuten Versuchsdauer im Knorpel weniger ^{35}S (++) als in Knochenmark, Speichel- und Tränendrüsen, Haut und Haaren (++ - +++). In der Dünndarmwand schien gegenüber seinem Inhalt jetzt etwas weniger Radioaktivität angereichert zu sein (++ - +++ in der Darmwand, ++ - ++++ im Lumen). Deutlich waren jedoch wieder Zottenstrukturen sichtbar. Weiterhin zeigten Magen und Dickdarm lumennah höhere ^{35}S-Konzentrationen (+++) als das Blut, bei kaum markiertem Inhalt (o - +) +. Ebenfalls über Blutniveau lag weiterhin die Radioaktivität in der Leber (+++). Im Nierenmark war noch stärkste Strahlung nachweisbar, sowie auch in der bei einem Tier dargestellten Blase (++++). Die Markierung der Nierenrinde war jedoch deutlich schwächer (+++).

Sechzig Minuten post injectionem (S. Abb. 3)

Sechzig Minuten nach ^{35}S-Azathioprin - Injektion fand sich weiterhin im Knorpel eine dem Blut entsprechende Anreicherung der Radioaktivität (++). Darüber erhöht war unverändert die in Haut, Haaren, Speichel- und Tränendrüsen (++ - +++), während sich das Knochenmark nun stärker markierte (+++). Dieser ^{35}S-Anreicherung entsprach die der Leber und nun auch der Niere, einschließlich Nierenmark (+++). Auffallend deutlich hoben sich Strukturen am Zungengrund und Rachendach von der Umgebung ab (Tonsillen?) (++++). Unverändert stellten sich Magenwand (++ - +++) und -lumen (o - +) dar, während sich gleich kräftig Dünndarm und Dickdarm (+++) markierten. Auch ihre Inhalte waren entsprechend abschnittsweise stärker oder schwächer mit strahlenden Partikeln gefüllt (+++ - ++++). Am Dünndarm

---

+ Bei einem juvenilen Tier allerdings zeigten Ösophagus, Magenschleimhaut und Mageninhalt stärkste Anreicherungen von 35S. Es ist jedoch zu vermuten, daß es sich in diesem Falle um einen Fehler handelt, der durch ein mögliches Ablecken der Injektionsstelle entstanden ist.

konnte wie an Magen und Dickdarmwand nun auch eine Doppelkonturierung beobachtet werden. Hier war allerdings eine lumenfernere Schicht stärker dargestellt. Am Dickdarm imponierte besonders die Rektumschleimhaut durch höhere ^{35}S-Anreicherung.

Zwei und drei Stunden post injectionem (S. Abb. 5)

Zwei und drei Stunden nach ^{35}S-Azathioprin - Injektion entsprach der Radioaktivität im Blut nun die in der Niere (++). Demgegenüber leicht erhöhte ^{35}S-Anreicherungen fanden sich neben Haut und Haaren, Tränen- und Speicheldrüsen jetzt auch im Knorpel (++ - +++). Ebenso stark markierte sich nun wieder das Knochenmark. Höhere ^{35}S-Konzentration zeigte die Leber (+++). Nur schwach zeichneten sich wieder Magen (++) und Mageninhalt (+) ab. Dünndarm und Dünndarminhalt waren nur abschnittsweise mässig (++) bis stark (++++) markiert. Kräftig trat die gesamte Dickdarmwand hervor (+++). Das Dickdarmlumen, besonders die im Rektum präformierten Kotballen, zeigte reichlich radioaktive Substanz (++++).
Ausgeprägte Aktivitätsanreicherung fand sich weiterhin in Strukturen an Zungengrund und Rachendach (++++).

Sechs Stunden post injectionem

Sechs Stunden post injectionem entsprach der Anreicherung der Radioaktivität im Blut die in der Niere (++). Stärker markierten sich demgegenüber wieder Speichel- und Tränendrüsen, Haut, Haare und Knochenmark (++ - +++), während der Knorpel deutlicher hervortrat (+++). Ebenso starke ^{35}S-Anreicherung zeigten Leber, ein Saum der Magenwand, die gesamte Dünndarm- und Dickdarmwand (+++). Die Rektumschleimhaut erschien besonders deutlich strukturiert. Der Mageninhalt war weiterhin fast frei von Radioaktivität. Der Dünndarminhalt zeigte ebenfalls unverändert mäßig bis starke ^{35}S-Anreicherung (++ - ++++). Höchste radioaktive Markierung fand sich wieder in Dickdarminhalt und in Strukturen an Zungengrund und Rachendach (++++).

Zwölf Stunden post injectionem

Zwölf Stunden post injectionem fand sich eine dem Blut entsprechende ^{35}S-Konzentration in Niere, Speichel- und Tränendrüsen (+ - ++). Leber und Knochenmark markierten sich noch um weniges stärker (++). Deutlich über der ^{35}S-Konzentration des Blutes lag die in den Haaren und im Knorpel (+++). Magen und Dünndarm, sowie deren Inhalte zeigten nur noch leicht über Blutniveau erhöhte Aktivitätsanreicherung (++). Höhere ^{35}S-Konzentrationen fanden sich in Dickdarm und Dickdarminhalt (+++). Stärkste Markierung zeigten weiterhin Strukturen an Zungengrund und Rachendach (++++).

Zwanzig Stunden post injectionem (S. Abb. 6)

Zwanzig Stunden post injectionem bedurfte es längerer Belichtungszeiten der Autoradiogramme, da die Aktivität im Blut sowie in den meisten Geweben auf kaum noch wahrnehmbare Konzentrationen abgesunken war (+). Leichte Aktivitätsanreicherung fand sich lediglich noch in der Leber und Milzrinde (+ - ++), in Dünndarmwand und Dünndarmlumen, Haut, Haaren und Knochenmark (++). Stärker markierte sich die Dickdarmwand (+++). Höchste Aktivitätsanreicherung zeigten wieder Strukturen an Zungengrund und Rachendach sowie jetzt auch der Knorpel (++++).
(In den Disci intervertebrales fand sich eine zentrale ^{35}S-Anreicherung, bei der es sich um eine Darstellung des Nucleus pulposus handeln könnte.)

2) Intravenöse Gabe beim gesunden Tier
(Tracer Dosis und mehrfach therapeutische Dosis)

Die Ratten mit einer intravenösen Azathioprin-Gabe von weniger als 2 mg / 1oog KG zeigten in den untersuchten fünf und fünfzehn Minuten post injectionem keine Abweichungen in der autoradiographischen ^{35}S-Verteilung gegenüber den oben beschriebenen Ratten.
Dagegen stellte sich bei einer Dosierung von 9.6 mg / 1oog noch dreißig Minuten post injectionem die Niere im Ver-

gleich zum Blut (++) maximal dar (++++). Stärkere und umfassendere ^{35}S-Anreicherung als bei den Vergleichstieren (Dosis 2 mg / 1oo g) waren bei dieser höheren Dosis in Dünndarm und Dünndarmlumen nach dreißig und sechzig Minuten Versuchsdauer nachweisbar.
Bei noch höherer Azathioprin-Dosierung (14.4 mg / 1oo g) waren noch drei Stunden post injectionem Niere (+++) und Nierenbecken (++++) maximal markiert. Dünndarm und Dünndarminhalt zeigten noch bis zu sechs Stunden post injectionem deutlich höhere ^{35}S-Anreicherung als beim Vergleichstier mit einer Azathioprin-Dosis von 2 mg / 1oo g. Darüber hinaus schienen sich auch bei dieser höheren Dosis die Haare stärker darzustellen.

3) Orale Azathioprin-Gabe beim gesunden Tier (S. Abb. 4)

Bei einer der intravenösen Gabe von 2 mg / 1oo g KG entsprechenden oralen Azathioprin-Dosis fanden sich in den beobachteten 6o Minuten, drei und sechs Stunden nach Applikation kaum Abweichungen in der autoradiographischen Verteilung des ^{35}S.
Lediglich der Mageninhalt und die Magenwand markierten sich sechzig Minuten nach oraler Gabe deutlich stärker (++++ bzw. +++) als beim Vergleichstier mit intravenöser Applikation (o bzw. ++). Mund- und Osophagusschleimhaut zeigten jedoch auch hier keine stärkere Anreicherung der Radioaktivität.
Bei allen Tieren des Versuches mit oraler Azathioprin-Gabe kam der Hoden zur Darstellung. Seine Markierung entsprach jedoch stets der des Fettgewebes (+ - ++).

4) Intravenöse Gabe beim CCl_4-geschädigten Tier (S. Abb. 7 - 1o)

Die autoradiographische Verteilung des ^{35}S auf die Strukturen der CCl_4-geschädigten Ratten war der der gesunden Tiere mit gleicher AZ-Dosis weitgehend vergleichbar.

Abweichend fand sich bei den kranken Ratten fünf Minuten post injectionem eine abschnittsweise im Dünndarminhalt deutlich erhöhte Strahlung (bis ++++). Drei und zwölf Stunden post injectionem waren dagegen im Dickdarminhalt weniger stark strahlende Strukturen als bei den gesunden Vergleichsratten nachweisbar. In den Lebern mit ausgeprägter Cirrhose (dreißig und sechzig Minuten, besonders aber zwölf Stunden post injectionem) imponierte eine insgesamt stärkere ^{35}S-Anreicherung. Besonders kräftig stellten sich die sog. Regeneratknoten dar.

Die Markierung des Ascites lag in den ersten fünfzehn Minuten post injectionem unter der des Blutes, um sich ihr dann anzugleichen. Auffallend stark (+++) stellte sich nach dreißig und sechzig Minuten Versuchsdauer die Serosa dar. (S. Abb. 8 und 9.)

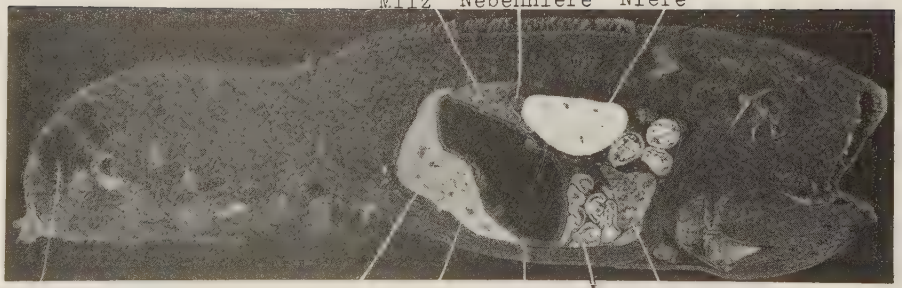

Abb. 1

Ganzkörperautoradiographie
juvenile Ratte 15 min.
nach 35S-Azathioprin i.v.

Azath.-Dosis	2mg/1oog KG
spez. Aktiv.	2.66mCi/mmol
Kontaktdauer	2od
Positivabzug	
Vergrößerung	1 : 1.4

Abb. 2

Ganzkörperautoradiographie
adulte Ratte 3o min.
nach 35S-Azathioprin i.v.

Azathioprin-Dosis	2mg/1oog KG
spez. Aktiv.	2.66mCi/mmol
Kontaktdauer	2od
Positivabzug	
Vergrößerung	1 : 1

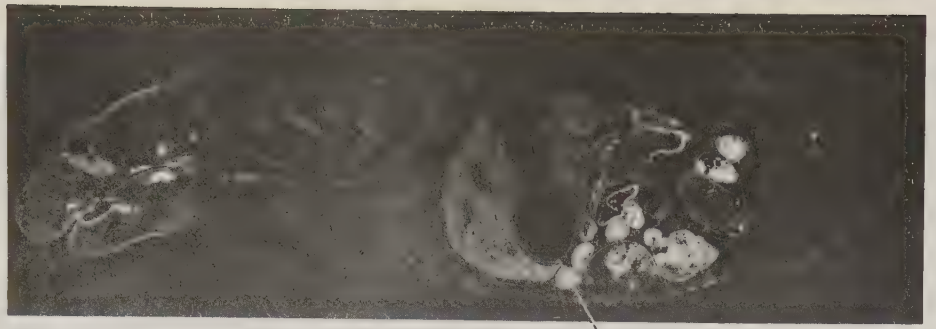

Abb. 3

Ganzkörperautoradiographie

adulte Ratte 6o min. nach i.v. Gabe von 35S-Azathioprin

Azath.-Dosis 2mg/1oog KG
spez. Aktiv. 2.66mCi/mmd
Kontaktdauer 2od
Positivabzug
Vergrößerung 1 : 1

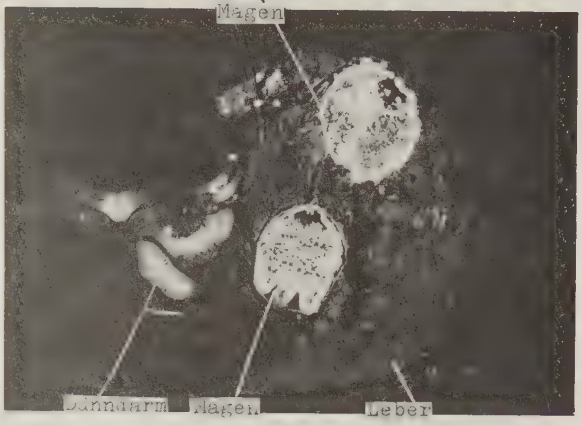

Abb. 4

Ganzkörperautoradiographie (Ausschnitt)

juvenile Ratte 6o min. nach oraler Gabe von 35S-Azathioprin

Azath.-Dosis 3.3mg/1oogKG
spez. Aktiv. 7.9omCi/ mmd
Kontaktdauer 8d
Positivabzug Ausschnitt
Vergrößerung 1 : 3

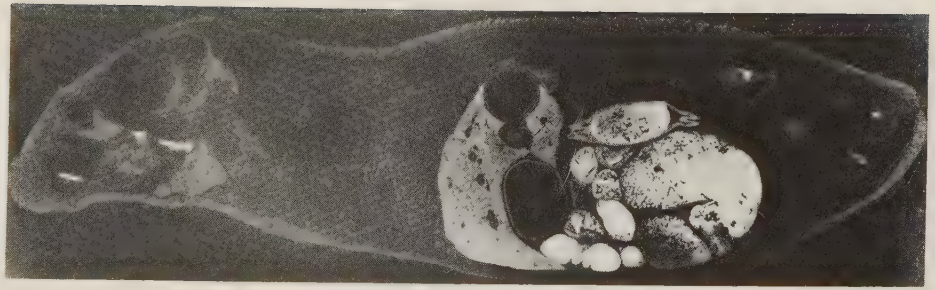

Abb. 5

Ganzkörperauto-
radiographie

juvenile Ratte 2h nach
35S-Azathioprin i.v.

Az.-Dosis 2mg/1oogKG
spez. Akt. 3.23mCi/mmol
Kontaktdauer 16 d
Positivabzug
Vergrößerung 1 : 1.4

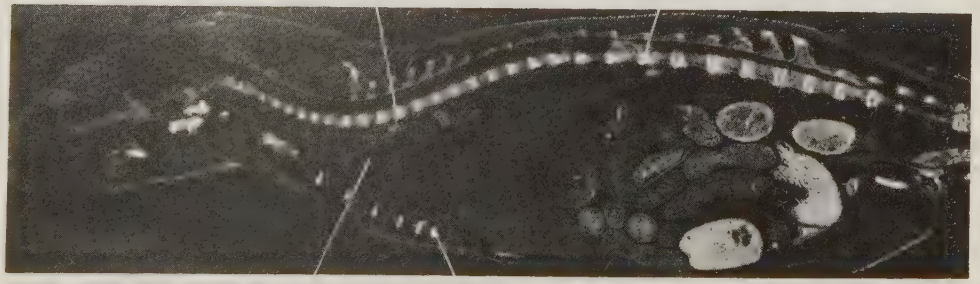

Abb. 6

Ganzkörperauto-
radiographie

juvenile Ratte
2oh nach
35S-Azathioprin i.V.

Az.-Dos. 2mg/1oogKG
spez.Akt. 3.23mCi/mmol
Kontaktdauer 5o d
Positivabzug
Vergrößerung 1 : 1.35

Abb. 7: Ganzkörperautoradiographie CCl_4-geschädigte Ratte
5 min. nach 35S-Azathioprin i.v.
(Azathioprin-Dosis 2mg/1oogKG;spez.Akt.1.o5mCi/mmol
Kontaktdauer 35d; Positivabzug Ausschnitt Vergr.1:2)

Abb. 8: Ganzkörperautoradiographie CCl_4-geschädigte Ratte
3o min. nach 35S-Azathioprin i.v.
(Azathioprin-Dosis 2mg/1oogKG;spez.Akt.1.o5mCi/mmol
Kontaktdauer 35d;Positivabzug Ausschnitt Vergr.1:2

Abb. 9: Ganzkörperautoradiographie CCl_4-geschädigte Ratte
6o min. nach 35S-Azathioprin i.v.
(Azath.-Dosis 2mg/1oogKG; spez.Akt.:1.o5mCi/mmol
Kontaktdauer:35d;Positivabzug;Ausschnitt;Vergr.1:2)

Abb.1o: Ganzkörperautoradiographie CCl_4-geschädigte Ratte
3 h nach 35S-Azathioprin i.v.
(Azath.-Dosis 2mg/1oogKG; spez.Akt.:1.o85mCi/mmol
Kontaktdauer:35d;Positivabzug;Ausschnitt;Vergr.1:2)

II. Organradioaktivitätsmessung

1) Verteilung des ^{35}S im Tier

Um die Ergebnisse der Ganzkörperautoradiographie quantitativ faßbar zu machen, wurde im folgenden die pro g Feuchtgewicht bzw. pro ml Flüssigkeit ermittelte Radioaktivität bezogen auf die pro 1oo g Tiergewicht injizierte Radioaktivität. Verglichen wurden die ^{35}S-Konzentrationen einiger Organe bzw. -inhalte jeder einzelnen [+] gesunden und CCl_4-geschädigten Ratte.
Die Ergebnisse im einzelnen sind in Tab. 1 aufgeführt [++].

a) Gesunde Ratten

Bei weitgehender grober Übereinstimmung mit den Ergebnissen der Ganzkörperautoradiographie sei auf folgende Ergänzung durch die quantitative Messung hingewiesen:
In Herz, Thymus, Milz, Ovar und Magenwand konnte unabhängig von der Versuchsdauer etwa die Hälfte der Serumradioaktivität nachgewiesen werden. Im Herzen fiel die ^{35}S-Konzentration im Vergleich zum Serum allerdings rascher ab.
In der Lunge erreichte die ^{35}S-Konzentration anfänglich zwei Drittel des Serumwertes, um ihn sechzig Minuten nach Injektion leicht zu übersteigen.
Die Organe und -inhalte, deren ^{35}S-Konzentration in keinem festen Verhältnis zum Serum standen, sollen getrennt hervorgehoben werden:

[+] In dieser Auswertung ist der Vergleich der ^{35}S-Konzentration der Organe der Tiere untereinander zum einen nicht beabsichtigt, zum anderen wegen stark abweichender Relation der Substratgewichte zum Körpergewicht nicht exakt verwertbar.

[++] Mit Vorbehalt sind folgende Tabellenwerte zu beurteilen:
1) 35S-Konzentration im Mageninhalt der Tiere 7,12,2o. Hier ist ein Ablecken der Injektionsstelle und damit orale Aufnahme von konzentriertem 35S wahrscheinlich.
2) 35S-Konzentration sämtlicher Substrate des Tieres 25. Hier lag ein extremer Ascites (51 ml) vor.

Fünf Minuten post injectionem

In Dünndarmwand und -inhalt waren hier die ^{35}S-Konzentrationen - im Gegensatz zu den Ergebnissen der Ganzkörperautoradiographie - noch der Serumkonzentration vergleichbar. Die Diskrepanz erklärt sich aus der autoradiographischen Beobachtung einer nur abschnittsweise stark erhöhten ^{35}S-Anreicherung, während hier der Mittelwert der Radioaktivität aus dem Gesamtdarm bestimmt wurde. Die ^{35}S-Konzentration der Niere erreichte bereits das Fünffache des Serumwertes.

Fünfzehn Minuten post injectionem

Die ^{35}S-Konzentration der Leber lag ca. doppelt so hoch wie die im Serum, während die der Niere etwa das Siebenfache des Serumwertes erreichte. Im ungewaschenen Blutsediment (in der Tab. nicht aufgeführt: o.42 % und o.5o % der pro 1oo g KG injizierten Radioaktivität) konnte im Vergleich zum Serum eine deutlich verminderte ^{35}S-Konzentration nachgewiesen werden.

Dreißig Minuten post injectionem

Die ^{35}S-Konzentration im Dünndarm erreichte, wie in der Niere, das Dreifache des Serumwertes, die im Dünndarminhalt dagegen das Sechsfache der Serumkonzentration.

Sechzig Minuten post injectionem

Etwa doppelt so hoch wie die ^{35}S-Konzentration im Serum war die in Leber und Niere. Während die Dünndarmwand nur noch wenig über Serumniveau erhöhte Radioaktivität zeigte, war im Dünndarminhalt höchste ^{35}S-Konzentration mit mehr als siebenfachem Serumwert nachweisbar.

Drei Stunden post injectionem

Höchste ^{35}S-Konzentration erreichte der Dickdarminhalt mit ca. fünf- bis zehnfacher Serumkonzentration. Der Dünndarminhalt entsprach dem mit fünffacher Serumkonzentration.

Zwölf Stunden post injectionem

Höchste ^{35}S-Konzentration erreichte der Dickdarminhalt. Angesichts der sehr niedrigen Serumkonzentrationen wurde auf einen zahlenmäßigen Konzentrationsvergleich verzichtet.

b) CCl_4-geschädigte Ratten

Bei den Ratten mit CCl_4-Schädigung konnten im wesentlichen den gesunden Tieren vergleichbare ^{35}S-Konzentrationen der Gewebe nachgewiesen werden +. Folgende Besonderheiten beim geschädigten Tier sollen jedoch im einzelnen besprochen werden:

In der Leber der geschädigten Ratten fanden sich in allen Versuchsgruppen erhöhte ^{35}S-Konzentrationen ++. Erst zwölf Stunden nach Injektion fand ein Angleich der Leberaktivitätskonzentration an die der Kontrollratten statt.

In der Milz der CCl_4-geschädigten Ratten lag die ^{35}S-Konzentration ++ etwa doppelt so hoch wie die in der Milz der gesunden Kontrolltiere.
Während die ^{35}S-Konzentration in Dünn- und Dickdarm bei den geschädigten Ratten den Werten der Kontrolltiere vergleichbar waren, zeigte sich im Dünndarminhalt der kranken Ratten in den ersten fünfzehn Minuten nach Injektion doppelt so hohe, dreißig Minuten und später dann aber deutlich erniedrigte ^{35}S-Konzentrationen ++ gegenüber den Vergleichswerten der gesunden Tiere. Im Dickdarminhalt ++ fand sich beim kranken Tier ebenfalls in den ersten dreißig Minuten Versuchsdauer auf ca. das Doppelte des Kontrollwertes erhöhte Radioaktivitätskonzentration. Zwischen einer und zwölf Stunden Versuchsdauer fiel die ^{35}S-Konzentration dann deutlich unter den Vergleichswert der gesunden Ratten ab.

+ Gelegentlich abweichende Gewebskonzentrationen erklären sich durch entsprechende Differenzen in den Serumkonzentrationen des 35S bei gesunden und kranken Tieren.

++ Diese Diskrepanz in der 35S-Konzentration in geschädigten und gesunden Organsubstraten wurde auch unter Berücksichtigung der Gesamtgewichte bestätigt.

Im Ascites erreichte die ^{35}S-Konzentration fünf Minuten post injectionem nur die Hälfte des Serumspiegels, um ab dreißig Minuten Versuchsdauer sich ihm anzugleichen.

Es sei darauf hingewiesen, daß die ^{35}S-Konzentration auch bei den hyperplastisch vergrößerten Nieren der CCl_4-geschädigten Ratten der der gesunden Kontrollnieren vergleichbar war.

Tab. 1: Ergebnisse der Organmessung.
Radioaktivität pro g Substrat in Prozent des pro 1oo g Körpergewicht injizierten 35S-Azathioprin. Kontrolltier: (Kon), CCl_4-geschädigtes Tier:(CCl_4)

	5 min				15 min					3o min			
Versuchsgruppe	Kon		CCl_4		Kon		CCl_4			Kon	CC14		
Versuchsnummer	(1)	(2)	(13)	(14)	(31)	(32)	(16)	(17)	(18)	(6)	(19)	(2o)	(21)
Leber	2.14	1.68	1.59	1.5o	1.o1	1.57	1.35	1.oo	1.28	o.62	o.68	1.3o	1.27
Niere	6.o8	7.93	6.19	8.26	4.13	5.39	6.75	3.19	3.o7	2.o6	1.o4	2.67	2.82
Magen	o.74	o.5o	1.o8	o.65	o.4o	o.33	o.52	o.34	o.41	o.34	o.29	1.o7	o.67
Dünndarm	1.o2	o.92	o.98	1.19	o.6o	o.83	o.62	o.29	o.53	1.96	o.92	1.4o	1.37
Dickdarm	o.5o	o.49	o.74	o.44	o.72	o.34	o.45	o.26	o.45	o.25	o.45	o.54	o.52
Mageninhalt	o.27	o.o6	o.2o	o.21	o.74	o.46	o.o6	o.o9	o.1o	o.8o	o.22	2.51	o.97
Dünndarminhalt	1.12	o.95	2.oo	1.97	o.76	o.95	2.93	1.15	1.47	3.76	1.76	2.82	2.88
Dickdarminhalt	o.36	o.21	1.o3	o.4o	o.o9	o.o6	o.28	o.18	o.24	o.34	o.52	o.47	o.67
Serum	1.52	1.41	1.59	1.47	o.59	o.82	o.56	o.44	o.75	o.58	o.46	o.71	o.82
Herz	o.9o	o.63	1.22	o.93	-	-	-	-	-	o.19	o.2o	o.43	-
Lunge	1.3o	o.9o	2.o1	1.59	-	-	-	-	-	o.5o	o.59	o.96	-
Thymus	o.91	o.52	1.25	1.o1	-	-	-	-	-	o.36	o.35	o.61	-
Milz	o.76	o.68	1.46	1.2o	-	-	-	-	-	o.31	o.55	o.96	-
Ovar	1.14	o.76	1.18	1.27	-	-	-	-	-	o.37	o.43	o.61	-
Gehirn	o.o7	o.o4	o.12	o.o7	-	-	-	-	-	o.o3	o.o5	o.o7	-
Ascites	-	-	o.38	o.98	-	-	o.34	o.39	o.67	-	-	o.44	o.75

Tab. 1 (Forts.) Ergebnisse der Organmessung.

Versuchsgruppe	60 min					3 h				12 h			
	Kon		CCl_4			Kon		CCl_4		Kon		CCl_4	
Versuchsnummer	(7)	(8)	(22)	(23)	(24)	(9)	(10)	(25)	(27)	(11)	(12)	(28)	(29)
Leber	1.65	0.74	1.51	1.18	1.45	0.63	0.91	2.37	1.09	0.35	0.29	0.39	0.32
Niere	3.96	1.06	0.99	1.22	1.94	0.24	0.29	0.57	0.27	0.08	0.09	0.12	0.11
Magen	0.76	0.31	0.32	0.48	0.25	0.15	0.12	0.20	0.19	0.04	0.08	0.10	0.06
Dünndarm	0.81	0.63	0.95	1.12	0.50	0.67	0.63	0.14	0.25	0.10	0.14	0.20	0.15
Dickdarm	0.61	0.68	0.54	0.45	0.26	0.84	0.34	0.62	0.76	0.57	0.67	0.29	0.18
Mageninhalt	1.53	0.11	0.30	0.58	0.23	0.16	0.06	0.24	0.08	0.03	0.15	0.21	0.10
Dünndarminhalt	3.67	4.34	2.53	2.53	1.64	1.16	1.46	1.17	1.00	0.20	0.32	0.55	0.46
Dickdarminhalt	0.66	0.92	0.77	0.46	0.29	2.87	1.27	1.36	1.75	1.60	2.32	0.60	0.66
Serum	0.57	0.49	0.45	0.40	0.38	0.20	0.15	0.11	0.23	0.03	0.05	0.07	0.07
Herz	0.20	0.17	0.19	0.32	0.22	-	-	-	-	-	-	-	-
Lunge	0.69	0.71	0.71	0.74	0.51	-	-	-	-	-	-	-	-
Thymus	0.23	0.26	0.24	0.29	0.22	-	-	-	-	-	-	-	-
Milz	0.41	0.35	0.45	0.69	0.54	-	-	-	-	-	-	-	-
Ovar	0.44	0.56	0.27	0.38	0.26	-	-	-	-	-	-	-	-
Gehirn	0.05	0.04	0.06	0.07	0.02	-	-	-	-	-	-	-	-
Ascites	-	-	0.40	-	0.33	-	-	0.13	-	-	-	-	-

2) Zeitlicher Verlauf des ^{35}S-Spiegels in Organen und -flüssigkeiten

Im folgenden Abschnitt wurden die Ergebnisse der Organradioaktivitätsmessung als zusammenfassende Betrachtung des Aktivitätsspiegels in jedem Gesamt-Organ bzw. -inhalt im Verlauf von fünf Minuten bis zwölf Stunden dargestellt. Den Verhältnissen am gesunden Organ wurden die am kranken angefügt.
Wegen stark variierender Gewichte der Tiersubstrate wurde in dieser Darstellung die Radioaktivität im Gesamtorgan bzw. -inhalt stets ausgedrückt als Prozent der injizierten Gesamtradioaktivität.

Herz, Lunge, Milz, Thymus, Ovar, Gehirn

Dem Verlauf des Serumspiegels entsprechend (s. Diagramm 1) zeigte sich in Herz, Lunge, Milz, Thymus, Ovar und Gehirn ein progredienter Abfall der ^{35}S-Aktivität. Dreißig Minuten post injectionem verringerte sich die Organradioaktivität auf etwa die Hälfte (im Herzen auf ein Viertel) [+] der fünf Minuten post injectionem gemessenen Radioaktivität. In den folgenden dreißig Minuten war der Strahlungsabfall weniger ausgeprägt.

Die in Lunge, Ovar und Gehirn nach sechzig Minuten gemessene leicht erhöhte Radioaktivität könnte auf zusätzliche Blutaktivität zurückzuführen sein. Bei der Präparation fiel eine hier stärkere hypostatische Blutfüllung auf.

Ähnlich verlief der Abfall der Radioaktivität in diesen Organen beim CCl_4-geschädigten Tier. Hier war jedoch der Abfall der Radioaktivität sechzig Minuten post injectionem gegenüber dem Dreißig-Minuten-Wert ausgeprägter.

[+] Bei den im Gehirn sehr geringen ^{35}S-Mengen war eine entsprechende Differenzierung nicht sicher durchzuführen.

Die Organe und -inhalte, in denen der ^{35}S-Spiegel einen vom Serumspiegel abweichenden Verlauf zeigte, sollen im folgenden gesondert beschrieben werden:

Serum (S. Diagramm 1)

Der ^{35}S-Spiegel im Serum zeigte vom Zeitpunkt der Injektion (1oo %) an einen steilen Abfall auf ca. 3.1 % nach fünf Minuten, 1.5 % nach fünfzehn Minuten, 1.2 % nach dreißig Minuten, 1.1 % nach sechzig Minuten, o.4 % nach drei Stunden, um nach zwölf Stunden o.o8 % der injizierten Gesamtmenge zu erreichen.

Im Vergleich dazu sank bei anfänglich gleichen Mittelwerten die Serumradioaktivität bei den CCl_4-geschädigten Ratten etwas langsamer ab. Nach zwölf Stunden lag sie mit o.15 % noch deutlich über dem Wert der Kontrollgruppe.

Leber (S. Diagramm 2)

Die Radioaktivität in der Leber zeigte beim gesunden Tier zunächst einen relativ raschen Abfall (6.8 % der injizierten Gesamtmenge nach fünf Minuten, 4.3 % nach fünfzehn Minuten), um nach dreißig Minuten mit 2.2 % einen vorübergehenden Tiefpunkt zu erreichen. Nach sechzig Minuten entsprach der ^{35}S-Spiegel wieder dem nach fünfzehn Minuten, um dann langsam abzufallen (2.5 % nach drei Stunden, 1.14% nach zwölf Stunden).

Der Verlauf der Leber-Radioaktivität bei den CCl_4-geschädigten Tieren entsprach im wesentlichen dem der Kontrolltiere. Nur lagen die prozentualen Anteile an der Gesamtaktivität insgesamt etwas höher. Besonders deutlich zeigte sich diese Diskrepanz nach drei Stunden, wo mehr als doppelt soviel ^{35}S als beim Kontrolltier in der Leber nachweisbar waren. Nach der auch bei den kranken Tieren nach dreißig Minuten beobachteten passagären Erniedrigung der Leberaktivität schien der folgende Radioaktivitätsgipfel verzögert aufzutreten, nämlich hier erst nach drei Stunden im Gegensatz zum Gipfel nach sechzig Minuten bei den Kontrollratten.

Nieren (S. Diagramm 1o)

Die Radioaktivität in den Nieren zeigte einen raschen Abfall. So konnten bei den Kontrolltieren im Mittel von der injizierten Gesamtradioaktivität nach fünf Minuten nur noch 4.4 %, nach fünfzehn Minuten 2.8 %, nach dreissig Minuten 1.1 %, nach sechzig Minuten o.6 %, nach drei Stunden o.14 % und nach zwölf Stunden noch o.o5 % nachgewiesen werden.

Bei den CCl_4-geschädigten Tieren war der Verlauf des ^{35}S-Spiegels in den Nieren dem der Kontrolltiere vergleichbar. Nur lagen auch hier die Werte insgesamt etwa doppelt so hoch wie bei den Kontrollratten. Drei Stunden post injectionem erreichte der prozentuale Anteil an der Gesamtradioaktivität in den Nieren mit o.97 % sogar fast das Sechsfache des Kontrollwertes. Jedoch lag dieser Wert unter dem der Nierenstrahlung nach sechzig Minuten. Es könnte an einen verzögerten Abfall des ^{35}S-Spiegels in den Nieren der geschädigten Ratten gedacht werden.

Magenwand (S. Diagramm 3)

Die Magenradioaktivität hielt sich über drei Stunden fast konstant um o.3 % der Gesamtmenge. Erst nach zwölf Stunden sank sie auf o.o3 % herab. Wegen der z.T. um das Zehnfache schwankenden Werte der Magenstrahlung innerhalb einer Zeitgruppe kann auf eine weitere Aufschlüsselung der Ergebnisse nicht eingegangen werden.

Der Verlauf des ^{35}S-Spiegels im Magen der CCl_4-geschädigten Tiere war dem der Kontrollratten vergleichbar.

Mageninhalt (S. Diagramm 4)

Die Radioaktivität im Mageninhalt fünf und fünfzehn Minuten post injectionem zeigte Werte unter o.2 % der injizierten Gesamtaktivität, während nach dreißig und sechzig Minuten o.6 % und o.4 % nachgewiesen werden konnten. Nach drei Stunden war der ^{35}S-Spiegel bereits auf o.o7 % der Gesamtstrahlung abgesunken, nach zwölf Stunden auf o.o5 %.

Im Vergleich dazu war die Radioaktivität im Mageninhalt der kranken Ratten erhöht, sowohl schon nach fünf Minuten, wie noch nach drei Stunden, jedoch lagen die höchsten Werte wie bei den Kontrollratten bei dreißig und sechzig Minuten.

Dünndarm (S. Diagramm 5)

Im Dünndarm der gesunden Ratten fanden sich von der injizierten Gesamtstrahlung nach fünf Minuten 1.6 %, nach fünfzehn Minuten 1.2 %, nach dreißig Minuten 3.5 %, nach sechzig Minuten 1.4 %, nach drei Stunden 1.o5 % und nach zwölf Stunden o.2 %. Es konnte demnach ein deutliches Maximum der ^{35}S-Anreicherung nach dreißig Minuten festgestellt werden.

Der Verlauf des ^{35}S-Spiegels im Dünndarm der CCl_4-geschädigten Ratten entsprach dem der Kontrollratten mit dem gleichen Strahlungsmaximum nach dreißig Minuten. Jedoch lag die Radioaktivität nach sechzig Minuten etwas über dem Vergleichswert, um bei drei Stunden schneller abzufallen und Werte unter denen der Kontrolltiere zu erreichen.

Dünndarminhalt (S. Diagramm 6)

Im Dünndarminhalt fanden sich von der injizierten Gesamtradioaktivität nach fünf Minuten 2.2 %, nach fünfzehn Minuten 1 %, nach dreißig Minuten 3.6 % und nach sechzig Minuten ein Maximum mit 6.3 %. Nach drei Stunden sank die Aktivität auf 1.6 %, um bei zwölf Stunden nur noch o.5 % zu erreichen.

Bei den CCl_4-geschädigten Ratten fanden sich in den ersten dreißig Minuten um das Zwei- bis Dreifache höhere Werte im Dünndarminhalt im Vergleich zu den Kontrollratten. Nach drei Stunden sanken die Werte unter die Vergleichswerte, um sich nach zwölf Stunden denen der Kontrollratten anzugleichen.

Dickdarm (S. Diagramm 7

Im Dickdarm konnte von der injizierten Gesamtradioaktivi-

tät nach fünf Minuten o.5 % und nach fünfzehn, dreißig und sechzig Minuten, sowie nach drei und zwölf Stunden je o.6 % nachgewiesen werden. Es fand sich somit eine fast gleichförmige Verteilung der Radioaktivität über zwölf Stunden.

Im Vergleich dazu zeigte sich im Dickdarm der kranken Tiere bei anfänglich ähnlichem Radioaktivitätsspiegel nach drei Stunden ein Anstieg des ^{35}S auf o.8 % und ein deutlicher Abfall auf o.3 % der injizierten Gesamtmenge nach zwölf Stunden.

Dickdarminhalt (S. Diagramm 8)

Im Dickdarm der gesunden Ratten konnte von der injizierten Gesamtradioaktivität nach fünf Minuten o.6 %, nach fünfzehn Minuten o.2 %, nach dreißig Minuten o.7 %, nach sechzig Minuten 1.6 %, nach drei Stunden 5.7 % und nach zwölf Stunden 7.4 % nachgewiesen werden. Es konnte also erst nach drei Stunden eine entscheidende Zunahme der Radioaktivität festgestellt werden.

Demgegenüber zeigte sich im Dickdarminhalt der kranken Ratten schon nach fünf Minuten ein hoher Radioaktivitätsgehalt mit 1.98 %. Nach einem vorübergehenden Absinken der Radioaktivität nach fünfzehn Minuten (o.8 %) stieg sie nach dreißig Minuten deutlich an, um nach drei Stunden mit 8.3 % ein Maximum zu erreichen und nach zwölf Stunden wieder auf 3.2 % abzusinken.

Stuhl (S. Diagramm 9

Stuhl konnte erstmals dreißig Minuten post injectionem gewonnen werden. Bei den gesunden Ratten fand sich zu diesem Zeitpunkt o.23 % der Gesamtradioaktivität in o.5 g Stuhl, nach sechzig Minuten 1.5 % in o.6 g und o.o1 % in o.2 g Stuhl. Nach drei Stunden wurden aus zwei mal o.3 g Stuhl je o.o5 % der Gesamtradioaktivität gewonnen und nach zwölf Stunden aus o.9 und o.8 g Stuhl o.7 %. Es konnte mit einiger Sicherheit nur gesagt werden, daß die Aktivität im Stuhl von o.23 % nach dreißig Minuten auf o.7 % nach

zwölf Stunden anstieg.

Die Interpretation der Meßwerte der Radioaktivität im Stuhl wurde dadurch erschwert, daß einerseits bei der Narkose vor dem Töten häufig Verluste gerade des aktivitätsreicheren Stuhles entstanden. Andererseits wurde die Deutung kompliziert durch mögliche Kontaminationen, die aufgrund der Bedingungen im Stoffwechselkäfig nicht vermieden werden konnten.

Bei den CCl_4-geschädigten Ratten fanden sich mit einer Ausnahme besser vergleichbare Werte der Radioaktivität im Stuhl. Nach dreißig Minuten ließen sich 1.5 %, nach sechzig Minuten 1.4 %, nach drei Stunden 3.o % und nach zwölf Stunden 1o % der Gesamtradioaktivität im Gesamtvolumen des Stuhls feststellen. Es war demnach besonders die gegenüber den Kontrollratten stark erhöhte ^{35}S-Ausscheidung nach zwölf Stunden deutlich.

Urin (S. Diagramm 11)

Auch Urin konnte erstmals nach dreißig Minuten Versuchsdauer aufgefangen werden. Zu diesem Zeitpunkt enthielt der Urin der gesunden Ratten schon mehr als ein Drittel der injizierten Gesamtradioaktivität. In den folgenden Stunden erhöhte sich die Radioaktivität im Urin nur wenig auf ca. die Hälfte der Gesamtaktivität nach zwölf Stunden Versuchsdauer.

Im Vergleich dazu war die ^{35}S-Ausscheidung im Urin der geschädigten Ratten erhöht. Nach zwölf Stunden waren bereits drei Viertel der injizierten Gesamtradioaktivität ausgeschieden worden.

Ursachen für die starken Abweichungen der Meßwerte der Urinradioaktivität liegen in der hohen Strahlung schon in wenigen Tropfen Urin einerseits und den z.T. doch erheblichen Verlusten im Stoffwechselkäfig und Äthertopf andererseits.

Diagramme 1 - 11:

Prozentuale Verteilung der injizierten Gesamtradioaktivität nach intravenöser ^{35}S-Azathioprin-Gabe auf die Gesamtorgane bzw. gesamten Körperflüssigkeiten im Verlauf von zwölf Stunden.

Vergleich der gesunden Kontrollratten (helle Säule) mit den tetrachlorkohlenstoffgeschädigten Ratten (dunkle Säule).

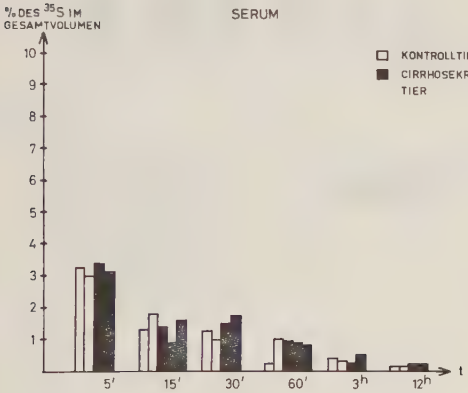

Diagramm 1:
% der injizierten Gesamtradioaktivität im Gesamtserum.

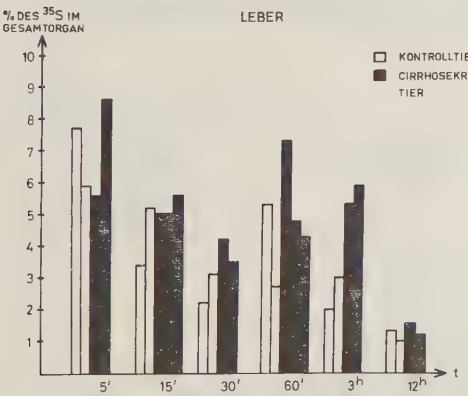

Diagramm 2:
% der injizierten Gesamtradioaktivität in der Leber

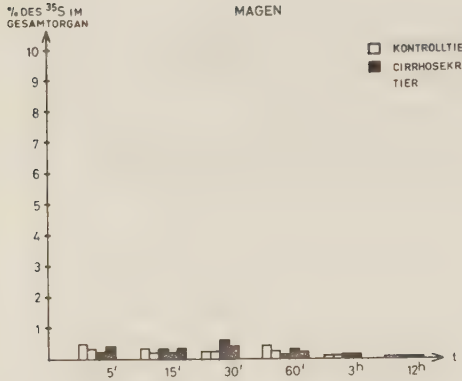

Diagramm 3:

% der injizierten Gesamtradioaktivität im Magen

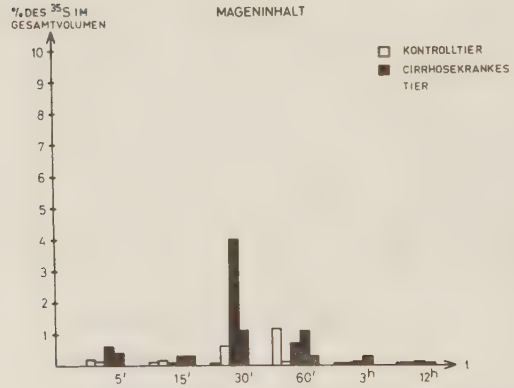

Diagramm 4:

% der injizierten Gesamtradioaktivität im Mageninhalt

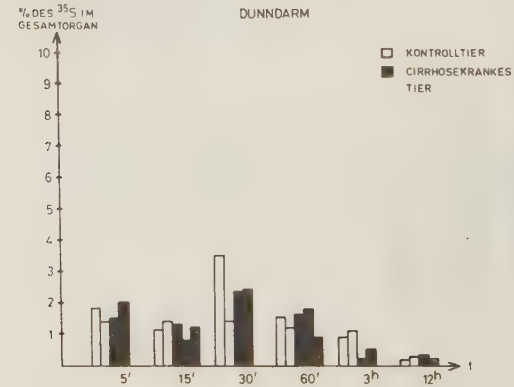

Diagramm 5:

% der injizierten Gesamtradioaktivität im Dünndarm

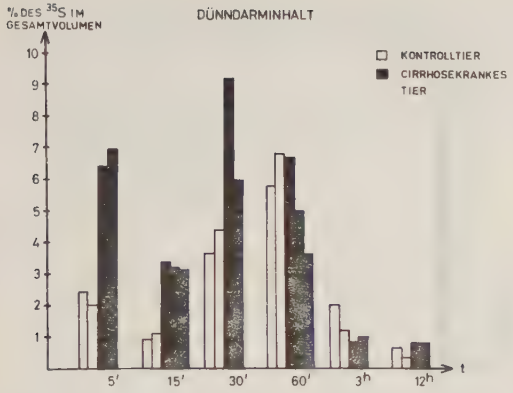

Diagramm 6:

% der injizierten Gesamtradioaktivität im Dünndarminhalt

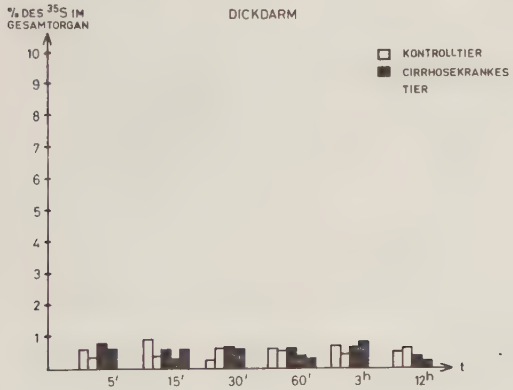

Diagramm 7:

% der injizierten Gesamtradioaktivität im Dickdarm

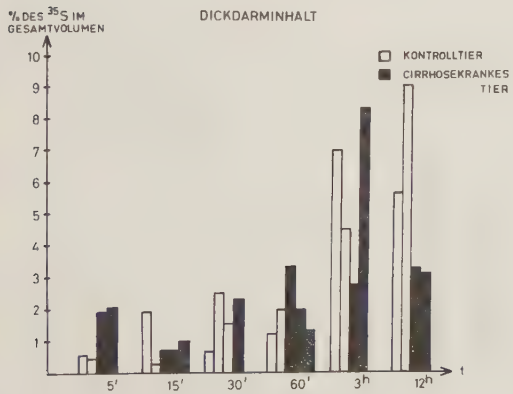

Diagramm 8:

% der injizierten Gesamtradioaktivität im Dickdarminhalt

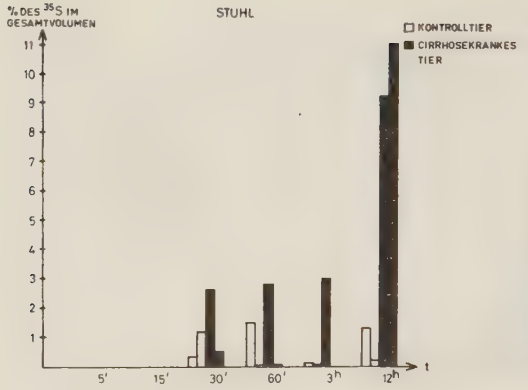

Diagramm 9:

% der injizierten Gesamtradioaktivität im Stuhl

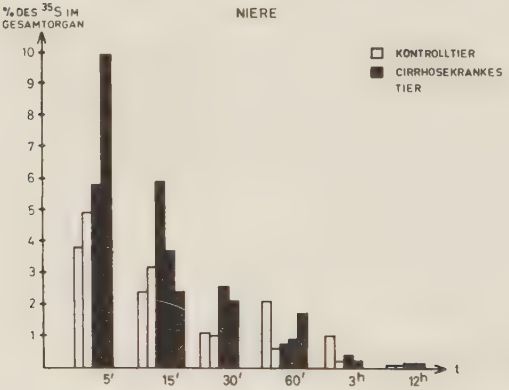

Diagramm 1o:

% der injizierten Gesamtradioaktivität in der Niere

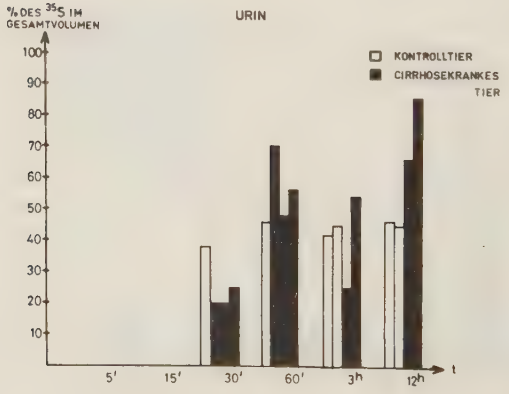

Diagramm 11:

% der injizierten Gesamtradioaktivität im Urin

III. Zusammenfassung der Einzelergebnisse von Ganzkörperautoradiographie und Organradioaktivitätsmessung

Unsere Versuche mit oraler und intravenöser Gabe von ^{35}S-Azathioprin an der gesunden und CCl_4-geschädigten Ratte ergaben folgendes Bild:

Resorption

^{35}S wurde nach oraler Gabe von ^{35}S-Azathioprin rasch resorbiert. Zum frühesten von uns beobachteten Zeitpunkt, sechzig Minuten nach oraler Gabe, war in den meisten Geweben (mit Ausnahme von ZNS, Knochencorticalis und Bulbus oculi) reichlich radioaktiver Schwefel nachweisbar. Die Resorption schien im wesentlichen im Dünndarm stattzufinden. Daneben zeigte aber auch die Magenwand bei oraler Applikation - entsprechend der Strahlung im Lumen - hohe ^{35}S-Anreicherung. Bei exakter parenteraler Gabe von ^{35}S-Azathioprin war dagegen keine annähernd so starke radioaktive Markierung der Magenwand zu beobachten. Im Dickdarm kam es auch bei hoher Aktivitätsanreicherung im Lumen zu keiner Zunahme der Markierung der Dickdarmwand, so daß eine Resorption des ^{35}S hier bei dem vorliegenden Applikationsmodus unwahrscheinlich ist.

Verteilung im Organismus

Auffallend war die Geschwindigkeit der ^{35}S-Elimination aus dem Blut, wie wir sie nach intravenöser Gabe beobachteten. Schon fünf Minuten nach Injektion waren im Gesamt-Serum nur noch ca. 3 % der injizierten Gesamtradioaktivität nachweisbar, nach fünfzehn Minuten nur noch 1.5 %. (Eine bevorzugte Anreicherung des ^{35}S im ungewaschenen Blutsediment konnte ausgeschlossen werden.) Als Ursache für den sofortigen Aktivitätsabfall im Blut fanden wir neben den früh einsetzenden exkretorischen Vorgängen die rasche und umfassende Verteilung des ^{35}S in fast allen Geweben, wobei sich stärker durchblutete Gewebe gegenüber gefäßärmeren deutlicher markierten. Diese Beobachtung konnte auch nach oraler Gabe bestätigt werden. Das früheste, von uns nach oraler Applikation erfaßte Verteilungsmuster

des ^{35}S (nach sechzig Minuten) entsprach dem dreißig Minuten nach intravenöser Gabe. Bemerkenswert war, daß bei keinem Tier weder im lymphatischen Gewebe von Milz und juvenilem Thymus, noch in Keimdrüsen oder Knochenmark über zwölf Stunden hinaus eine wesentliche Retention des ^{35}S beobachtet werden konnte. Es fand sich lediglich eine Verzögerung des Radioaktivitätsabfalles über sechs Stunden in Milz, Knochenmark, sowie Lunge, Speicheldrüsen, Tränendrüsen, Haut und Haaren. Zu keinem Zeitpunkt konnte nennenswerte Radioaktivität in Zentralnervensystem, Glaskörper und Knochenkortikalis nachgewiesen werden. Dagegen fand sich in den ersten drei Stunden hohe ^{35}S-Anreicherung vor allem in der Leber, sowie in Niere und Darm. Die Radioaktivitätskonzentration in der Niere erreichte die im Serum nach ein bis drei Stunden, die im Darm entsprach der Serumkonzentration erst zwölf bis zwanzig Stunden nach ^{35}S-Azathioprin-Gabe. In der Leber zeigte sich nach intravenöser Gabe in den ersten drei Stunden relativ gleichbleibend hohe ^{35}S-Anreicherung. Noch zwölf Stunden post injectionem lag die Radioaktivitätskonzentration noch deutlich über der des Serums.

Retention (Einbau?)

Deutliche Anreicherung der Radioaktivität konnte nach zwanzig Stunden (dem spätesten von uns beobachteten Zeitpunkt) noch im hyalinen und elastischen Knorpel, sowie im nucleus pulposus (?) und in Strukturen am Zungengrund und Rachendach (Tonsillen?) beobachtet werden.

Exkretion

Die Ausscheidung der Radioaktivität über die Niere erreichte nach intravenöser Gabe von ^{35}S-Azathioprin in den ersten sechzig Minuten ein Maximum. Die Anreicherung des ^{35}S im Nierenparenchym war in den ersten fünfzehn Minuten absolut und relativ zum Serum am stärksten erhöht, um dann langsam über zwölf Stunden abzusinken. Bei einer Azathioprin-Dosierung von 2 mg / 1oo g Körpergewicht erreichte der Radioaktivitätspiegel der Niere nach ca. sechzig Minuten das Serumniveau. Bei höherer Dosierung zeigte sich

weit über diesen Zeitpunkt hinaus noch über Serumkonzentration erhöhte Nierenradioaktivität.

Im Urin fanden wir dreißig Minuten post injectionem bereits über ein Drittel der injizierten Gesamtradioaktivität. In den folgenden dreißig Minuten stieg der ^{35}S-Gehalt im Urin nur noch um ca. 1o % der injizierten Gesamtradioaktivität, um sich in den folgenden 11 Stunden nicht im wesentlichen zu erhöhen. Wir vermuteten, daß schon fünf Minuten post injectionem ^{35}S im Urin ausgeschieden wurde. Wenn uns zu diesem Zeitpunkt auch noch kein Urin zur Messung vorlag, so konnten wir jedoch autoradiographisch schon fünf Minuten post injectionem im Nierenbecken starke Radioaktivitätsanreicherung feststellen.

Neben der Niere zeigte sich der Dünndarm als wichtigstes Ausscheidungsorgan für ^{35}S, wie wir im intravenösen Versuch nachweisen konnten. Schon fünf Minuten post injectionem von ^{35}S-Azathioprin waren in einzelnen Dünndarmabschnitten und deren Inhalt schon beträchtliche Aktivitätsanreicherungen zu beobachten. Die Ausscheidung des ^{35}S über den Dünndarm erreichte in den ersten sechzig Minuten ein Maximum. Bei Steigerung der Azathioprin-Dosis schien die ^{35}S-Ausscheidung früher mehr Dünndarmabschnitte zu erfassen und länger anzudauern. Die später als zwölf Stunden post injectionem im Stuhl nachweisbare Radioaktivität deuteten wir als Folge der Dünndarmexkretion. Sie betrug in diesem Zeitraum ca. 1o % der injizierten Gesamtradioaktivität.

Im Magen konnten wir keine wesentliche Beteiligung an der Exkretion von ^{35}S beobachten. Auffallend war jedoch eine relativ konstante Aktivitätsanreicherung in einer lumennahen Schicht des Magencorpus und -antrum.

Im Dickdarm mußte jedoch eine mäßige Exkretion von ^{35}S vermutet werden. Schon fünfzehn und dreißig Minuten nach intravenöser Gabe wurden im Dickdarminhalt ca. 1 % der Gesamtradioaktivität nachgewiesen, zu einer Zeit, in der eine Passage der Radioaktivität aus dem Dünndarm noch nicht zu erwarten war. Erst der sprunghafte Anstieg des ^{35}S im

Dickdarminhalt bei gleichzeitigem Abfall der Radioaktivität im Dünndarminhalt drei Stunden post injectionem schien den Zeitpunkt zu markieren, an dem die strahlende Substanz aus dem Dünndarmlumen den Dickdarm erreichte.

Im Stuhl war in den ersten zwölf Stunden keine wesentliche Strahlung nachweisbar. (Sie lag unter 1 % der injizierten Gesamtradioaktivität.) Um so stärker waren zwölf Stunden nach Injektion im Enddarm präformierte Kotballen markiert. Es mußte demnach ein sprunghafter Anstieg der Stuhlradioaktivität über zwölf Stunden hinaus erwartet werden.

Pharmakokinetik bei CCl_4-Schädigung

Bei Ratten mit CCl_4-Schädigung fanden wir keine wesentlichen Abweichungen in der Verteilung des ^{35}S nach intravenöser Gabe von ^{35}S-Azathioprin. Lediglich die Ausscheidung über den Darm war beschleunigt - eine Beobachtung, die wir im Zusammenhang mit der bei allen kranken Tieren vorliegenden Diarrhoe deuteten. In der vergrößerten Milz und in den vergrößerten Nieren der geschädigten Ratten war insgesamt mehr ^{35}S nachweisbar als bei den gesunden Kontrollratten. Die Ausscheidung der Radioaktivität im Urin war jedoch bei kranken und gesunden Tieren annähernd vergleichbar. In der Leber schien ^{35}S länger retiniert zu werden als beim gesunden Tier. Wie die Ganzkörperautoradiogramme zeigten, war hier die Radioaktivität deutlich auf die sog. Regeneratknoten der geschädigten Leber konzentriert. Im Ascites erreichte der ^{35}S-Gehalt fünfzehn bis dreißig Minuten nach Injektion annähernd den Serumspiegel, um ihm entsprechend in den folgenden Stunden abzusinken. Zwischen dreißig Minuten und drei Stunden post injectionem zeichneten sich deutlich die serösen Häute der Ascites tragenden Ratten ab.

Bei hochgradigem Ascites muß die Retention des ^{35}S im Extravasalraum angenommen werden. Im Ascites allein fanden sich 2.5 % der injizierten Gesamtradioaktivität. Der Serumspiegel war im Vergleich zu dem des geschädigten Tieres gleicher Zeitgruppe erniedrigt. Die Gewebespiegel des 35S in Leber und Niere lagen in dem hier beobachteten Intervall nach Injektion noch weit über den Vergleichswerten. Deutlich verzögert erschien auch die Ausscheidung der Radioaktivität in den Darminhalt und Urin.

D I S C U S S I O N

I. In der vorliegenden Arbeit sehen wir einen Beitrag zur Klärung einiger, bisher offener Fragen der Pharmakokinetik von Azathioprin.

Darmradioaktivität. Bisher unbekannt war die Exkretion von ^{35}S-Azathioprin, die wir bei intravenöser Applikation nachweisen konnten. Unsere Beobachtungen lassen Zweifel an Aussagen früherer Autoren aufkommen.

B ä r [38] beschrieb eine zum Teil 'vollständige' Ausscheidung des 35S im Urin nach 35S-Azathioprin-Gabe. E l i o n [13] vermutete, daß es sich um nicht resorbiertes 35S-Azathioprin handle bei der von ihr im Stuhl nachgewiesenen Radioaktivität achtundvierzig Stunden nach oraler Gabe der markierten Substanz.

B ä r s Aussage konnte widerlegt werden. E l i o n s Vermutung konnten wir zwar nicht ausschließen, auffallend war jedoch, daß wir nach intravenöser Gabe mit 1o % der injizierten Gesamtradioaktivität fast ebensoviel ^{35}S im Stuhl fanden wie E l i o n (12 %).

Resorptionsgeschwindigkeit. Überraschend wirkte bei Durchsicht der Literatur die Geschwindigkeit der oralen Resorption von Azathioprin.

B a c h [17] beschrieb nach oraler Gabe von ^{35}S-Azathioprin ein Radioaktivitätsmaximum im Blut nach dreißig bis sechzig Minuten +. C h a l m e r s 16) beobachtete ein Maximum der Thioharnsäure- und Imidazolyl-Ausscheidung im Urin sechzig bis hundertzwanzig Minuten nach oraler Applikation von 35S-Azathioprin. (In dieser Zeit mußte demnach Resorption und Metabolisierung von Azathioprin stattgefunden haben.)

Hier könnte die von uns postulierte Resorption von Azathioprin bereits im Magen eine Erklärung liefern. In welchem Umfang der Magen an der Resorption beteiligt sein könnte,

---

+ Auffallend war, daß E l i o n 13) und B e c k e r 18) ein Serummaximum der Radioaktivität nach oraler Gabe von 1oo mg beim Menschen erst nach zwei Stunden fanden. Ihre Dosis lag damit unter der Vergleichsdosis von B a c h (3mg / kg).

bliebe noch abzuklären. Weiterhin blieb die Frage offen, ob die Geschwindigkeit der Resorption beeinflußt wird durch z.B. wiederholte Gaben oder höhere Einzeldosen.

II. Andere in der Literatur bereits beschriebene Ergebnisse konnten wir bestätigen:

Radioaktivität im Urin. Berücksichtigt man die unterschiedliche Applikationsform - wobei nach oraler Gabe das Serummaximum des ^{35}S ca. dreißig bis sechzig Minuten später auftritt als nach intravenöser Gabe - fanden wir einen ähnlichen Radioaktivitätsgipfel und einen vergleichbaren Umfang der ^{35}S-Ausscheidung im Rattenurin.

Wir beschrieben ein Maximum der ^{35}S-Ausscheidung innerhalb der ersten dreißig Minuten post injectionem von 35S-Azathioprin. E l i o n 9) und C h a l m e r s 16) beobachteten nach sechzig bis hundertzwanzig Minuten Maxima des ersten Hauptmetaboliten im Urin, der Thioharnsäure. Wir fanden im Zwölf-Stunden-Urin + ca. 45 % der injizierten Gesamtradioaktivität, E l i o n 13) im Vierundzwanzig-Stunden-Urin ca. 5o %.

Gewebsverteilung. Annähernd mit unseren Ergebnissen vergleichbar waren die Angaben aus der Literatur ++ über die Verteilung des ^{35}S in einzelnen Geweben.

E l i o n 12) beschrieb nach intraperitonealer Gabe von 35S-Azathioprin bei der Maus ein Absinken der Nierenradioaktivität auf Plasmaniveau nach vier Stunden. Wir fanden eine der Plasmaradioaktivität entsprechende 35S-Konzentration in der Niere nach drei Stunden.

+ Der Vergleich der unterschiedlichen Urinproben schien uns insofern gerechtfertigt, als E l i o n 9) nachwies, daß der zuletzt im Urin auftretende Metabolit später als zwölf Stunden nach Azathioprin-Gabe kaum noch nachweisbar ist.

++ Die Angaben B e c k e r s 18) über den Verlauf der Radioaktivitätsspiegel in einzelnen Geweben konnten wir nicht vergleichen, da in den uns vorliegenden Unterlagen die Zeitangaben nicht aufgeführt waren.

Auch E l i o n s Angaben zur Darmradioaktivität konnten von uns bestätigt werden, obwohl wir im einzelnen durch die getrennte Auswertung von Darmabschnitten und -inhalten zu abweichenden Teilergebnissen kamen.

Pharmakokinetik bei Hepatopathie. Ebenfalls in Übereinstimmung mit der bisher vorliegenden Literatur über die Pharmakokinetik von Azathioprin bei Hepatopathie (B a c h [17], B e c k e r [18], E l i o n [13]) fanden wir keine bedeutenden Abweichungen zum gesunden Organismus.

III. Ungeklärt blieb weiterhin:

Welche Bedeutung hat die Leber im Stoffwechsel von Azathioprin? Anders als in den meisten Geweben fanden wir hier über längere Zeit relativ gleichbleibend hohe Radioaktivität. Eine mögliche Erklärung läge in der von E l i o n [35] aufgestellten Vermutung, daß die Methylierung von Azathioprin als Vorstufe der Sulfatbildung in der Leber stattfindet. Wenn Sulfat im Urin nach fünf bis zehn Stunden sein Maximum erreicht, wäre der von uns beobachtete relativ hohe Radioaktivitätsspiegel in der Leber noch nach drei Stunden deutbar als Anreicherung von methylierten Azathioprin-Metaboliten. Denkbar wäre jedoch auch eine hohe Radioaktivität in der Leber zu einem relativ späten Zeitpunkt im Falle eines enterohepatischen Kreislaufes von Azathioprin und/oder seinen schwefelhaltigen Metaboliten. Diese Möglichkeit ergab sich durch unsere Beobachtung der Fähigkeit des Dünndarms zur Resorption wie auch zur Exkretion von ^{35}S nach ^{35}S-Azathioprin-Gabe.

Fragen nach einzelnen Metaboliten konnten im Rahmen der vorliegenden Arbeit nicht beantwortet werden. Dennoch möchten wir hier einige Vermutungen anschließen, die anhand unserer Beobachtungen auftauchten:

1) Es war anzunehmen, daß die von uns schon fünf Minuten nach intravenöser Gabe von ^{35}S-Azathioprin in der Niere

nachgewiesene Radioaktivität überwiegend Thioharnsäure sei. R u n d l e s [10] hatte auf die Bedeutung der Niere für die Bildung und Ausscheidung von Harnsäure und auf die Geschwindigkeit des Vorganges hingewiesen.

2) Gestützt auf die gleiche Arbeit, in der der ebenfalls hohe Xanthin-Oxydase-Gehalt des Darmes erwähnt wurde und die Ausscheidungsfunktion auch dieses Organs für die Harnsäure, erschien es denkbar, daß es sich bei der schon fünf Minuten post injectionem im Dünndarm nachgewiesenen Radioaktivität ebenfalls um Thioharnsäure handelt.

3) In der Schleimhaut des Magencorpus, sowie im Rectum wurden autoradiographisch höhere Anreicherungen der Radioaktivität beobachtet, als im Magenfundus bzw. anderen Colonabschnitten. Es könnte sich hier um eine ^{35}S-Ausscheidung im Schleim der Becherzellen handeln, eine Frage, die histio-autoradiographisch abgeklärt werden könnte.

4) Wir erwähnten eine vorübergehende ^{35}S-Retention in Lunge, Milz, Knochenmark und Serosa nach ^{35}S-Azathioprin-Gabe. Hier bliebe abzuklären, ob es sich um eine Affinität eines schwefelhaltigen Metaboliten zu besonderen Faserelementen - etwa den Reticulinfasern - handeln könnte, oder ob ^{35}S im R E S dieser Gewebe retiniert würde. Auch hier wären weitere mikroautoradiographische Untersuchungen aufschlußreich.

5) Ein Einbau von ^{35}S zwanzig Stunden nach Azathioprin-Gabe konnte nur im Knorpel, in der Gefäßwand und in Strukturen an Zungengrund und Rachendach vermutet werden. Im Vergleich mit Ganzkörperautoradiographien von Ratten vierundzwanzig Stunden nach Gabe von radioaktiv markiertem anorganischen Sulfat stellten wir jedoch völlige Übereinstimmung in der Markierung der Gewebe fest. Wir müssen daher annehmen, daß der von uns im Knorpel, Gefäßwand, Zungengrund und Rachendach beobachtete ^{35}S hier in Form von anorganischem Sulfat vorliegt.

Aus diesen Vermutungen zur Metabolisierung von Azathioprin ergab sich die Frage, ob Azathioprin in der vorliegenden Arbeit überhaupt in der Form erfaßt werden konnte, in der es seine charakteristische Wirkung entfaltet. Bekanntlich zeigen sich die für Azathioprin charakteristischen therapeutischen und toxischen Wirkungen frühestens einige Tage nach Inkorporation. Über vierundzwanzig Stunden hinaus fanden wir aber in Übereinstimmung mit anderen Autoren in keinem der für die Wirkung verantwortlichen Gewebe eine nennenswerte ^{35}S-Anreicherung. Auch für einen denkbaren "Azathioprin-Speicher" fern vom Wirkungsort fanden wir keinen Anhalt. Wenn Azathioprin nicht sofort nach Einleitung einer Fehlentwicklung (z.B. Bildung eines fehlerhaften Proteins) den Körper wieder verläßt, müßte es in kleinsten, mit unserer Methode nicht erfaßbaren Spuren im Organismus retiniert werden.

Unberührt von unseren Untersuchungen bleibt die Frage nach dem Verbleib des wirksamen Azathioprins. Wenn es auch anzunehmen ist, daß die Wirkung von Azathioprin seinem Thiopurinylrest zuzuschreiben ist, erscheint es doch wichtig, in weiteren Untersuchungen [13] seinen Imidazolyl-Rest im Organismus zu verfolgen. Vieles unterstützt jedoch die Vermutung von H i t c h i n g s [19], daß Azathioprin in kleinsten Dosen, evtl. nur in einem spezifischen Zellklonus angreifend, zur Änderung der Immunreaktion führt. Um derartige Mikromengen der Substanz aufzuspüren und um derart spezifische Zellgruppen zu erfassen, gilt es jedoch, neue, subtilere Methoden zu entwickeln.

Z U S A M M E N F A S S U N G

Die Verteilung von ^{35}S-Azathioprin wurde an sechsundzwanzig gesunden und tetrachlorkohlenstoff-geschädigten Ratten ganzkörperautoradiographisch nach der Methode von U l l b e r g nach intravenöser und oraler Applikation untersucht. Es wurden zweihundert Autoradiographien ausgewertet. Diese Untersuchungen wurden durch die Messung der Radioaktivität in Organhomogenaten und Körperflüssigkeiten an sechsundzwanzig gesunden und tetrachlorkohlenstoff-geschädigten Ratten ergänzt.

Wir fanden in keinem Gewebe, in dem Azathioprin seine therapeutische wie toxische Wirkung entfaltet, noch in irgendeinem anderen Gewebe - auch nicht im juvenilen Thymus - eine auffallende ^{35}S-Retention. Das Verteilungsmuster der Radioaktivität zwanzig Stunden nach Applikation von ^{35}S-Azathioprin entsprach vielmehr völlig dem nach Gabe von radioaktiv markiertem anorganischen Sulfat.

Bereits fünf Minuten nach intravenöser ^{35}S-Azathioprin-Gabe waren nur noch ca. 3 % der Radioaktivität im Serum nachweisbar. Der Serumradioaktivität entsprach die in Muskel, Binde- und Fettgewebe. Auffallend hohe ^{35}S-Anreicherung fand sich in der Niere - die als Ausscheidungsorgan bekannt ist -, in Dünndarmwand und -lumen, in Leber, Milz und Magenschleimhaut. Frei von Radioaktivität waren Zentralnervensystem, Knochenkortikalis und Glaskörper.

Durch unsere Versuche mit intravenöser ^{35}S-Azathioprin-Gabe konnten wir erstmals die Exkretion von ^{35}S im Dünndarm nachweisen. Sie begann ebenfalls bereits fünf Minuten nach Injektion und erreichte ein Maximum nach sechzig Minuten. Die in zwölf Stunden über den Darm sezernierte Radioaktivität entspach etwa 1o % der injizierten Gesamtradioaktivität.

Die autoradiographischen Befunde nach oraler Gabe von ^{35}S-Azathioprin sprechen ferner für eine Resorption durch

die Magenschleimhaut.

In der Leber der tetrachlorkohlenstoff-geschädigten Ratten fanden sich Anhaltspunkte für eine im Vergleich zum gesunden Tier längere Retention des ^{35}S. Die Radioaktivitat war deutlich auf die sog. Regeneratknoten der geschädigten Leber konzentriert. Mit Ausnahme einer beschleunigten Darmpassage des ^{35}S fanden wir darüber hinaus jedoch keine Abweichung in der Pharmakokinetik des ^{35}S-Azathioprin im tetrachlorkohlenstoff-geschädigten Organismus.

Die erhobenen Befunde werden diskutiert.

L I T E R A T U R

1) ELION,G.B., HITCHINGS,G.H.:

The metabolism in vivo of antitumor imidazolyl derivates of mercaptopurines. Fe.Proc. 18,3 : 221 (1959)

2) HITCHINGS,G.H., ELION,G.B.:

Activity of heterocyclic derivates of 6-mercaptopurine and 6-thioguanine in adenocarcinoma 755. Proc. Amer.Ass. Canc. Res. 3,1 : 27 (1959)

3) SCHWARTZ,R. et al:

Effects of 6-mercaptopurine on antibody production. Proc. Soc. Exp.Biol.Med. 99 (1958)

4) NATHAN,H.C. et al:

Detection of agents which interfere with immune response. Proc. Soc.Exp.Biol.Med. 1o7 : 796 (1961)

5) CALNE,R.Y.:

Inhibition of the rejection of renal homografts in dogs by purine anlalogs. Transp.Bull. 28 : 65 (1961)

6) ELION,G.B. et al:

A summary of investigations with 6-[(1-methyl-4-nitro-5-imidazolyl)]thio purine (B.W. 57-322). Canc. Chemother. Rep. 14 : 93 (1961)

7) RUNDLES,R.W. et al:

Clinical and haematological study of 6-(1-methyl-4-nitro-5-imidazolyl) thiopurine (B.W. 57-322) and related compounds. Canc. Chemother. Rep. 14 : 99 (1961)

8) CHALMERS,A.H., et al.:

6-Thiopurines as substrates and inhibitors of purine-oxidases - a pathway for conversion of azathioprine to 6-thiouric acid without release of 6-mercapto-purine. Aust. J.Exp.Biol.Med. 47 : 263 (1969)

9) ELION,G.B.:

Biochemistry and pharmacology of purine analogues. Fed.Proc. 26,1 : 898 (1967)

1o) RUNDLES,R.W. et al.:

Drugs and uric acid. Ann.Rev.Pharm. 9 : 345 (1969)

11) GEREBTZOFF,A. et al.:

Immunosuppressive agents. Ann.Rev.Pharm. 12 : 287 (1972)

12) ELION,G.B.:
'Imuran' (azathioprine) pharmacokinetics and metabolic fate. Wellcome Res.Lab. 1968

13) ELION,G.B.:
Significance of azathioprine metabolites.
Proc.R.Soc.Med. 65 : 257 (1972)

14) DE MIRANDA,P., CHU,L.C.:
Fed.Proc. 29 : 2o28 (197o)

15) ELION,G.B. et al.:
Relationship between metabolic fates and antitumor activities of thiopurines. Canc.Res. 23:12o7 (1963)

16) CHALMERS,A.H. et al.:
Conversion of azathioprine into 6-mercaptopurine and mercaptoimidazole derivates in vitro and during immunosuppressive therapy. Aust.J.Exp.Biol.Med. 45 : 681 (1967)

17) BACH,J.F., DARDENNE,M.:
Serum immunosuppressive activity of azathioprine in normal subjects and patients with liver disease.
Proc.Roy.Soc.Med. 65 : 26o (1972)

18) BECKER,H. et al.:
Pharmakokinetische Untersuchungen mit ^{35}S-Azathioprin im Tierversuch und beim Menschen. (1973)

19) HITCHINGS,G.H., ELION,G.B.:
Chemical suppression of immune response.
Pharm.Rev. 15,2 : 365 (1963)

2o) PAGE,A.R. et al.:
Effects of 6-mercaptopurine on inflammation.
Fed.Proc. 2o : 16o (1961)

21) PERINGS,E. et al.:
Untersuchungen über die antiinflammatorische Wirkung von Azathioprin. Int.J.Clin.Pharm. 5 : 2oo (1971)

22) FORBES,I.J. et al.:
Effects of antiinflammatory drugs on lymphocytes.
Lancet : 334 (1967)

23) SCHMÄHL :
Experimentelle Untersuchungen über cancerogene Wirkungen von Krebs-Chemotherapeutica und Immunsuppressiva. Arzneimittelforsch. 2o. Jahrg., 1o (197o)

24) STARZL,Th.E. et al.:

Attributes of clinically used immunosuppressive drugs: possible future uses of antilymphoid sera. Fed.Proc. 26,1 : 944 (1967)

25) LIE,T.S. et al.:

Beitrag zur immunsuppressiven Therapie bei der experimentellen und klinischen Lebertransplantation. Zentralbl. f. Chir. 95 : 1001 (1970)

26) KNICK :

Therapie mit immunsuppressiven Antimetaboliten bei floriden chronischen Leberprozessen. Akute und chronische Lebererkrankungen. Thieme Verlag 1966

27) GJONE,E. et al.:

Azathioprine treatment in active chronic hepatitis. Acta med.scand. 193 : 109 (1973)

28) ZARDAY et al.:

Irreversible liver damage after azathioprine. J. Am. Med. Ass. 6 : 690 (1972)

29) ARONSEN,K.F.:

Enzyme histochemical studies of the liver during immunosuppressive treatment in dogs. Acta chir. scand. 136 : 529 (1970)

30) REUBER,M.D.:

Accentuation of carbon-tetrachloride induced cirrhosis by azathioprine in rat. Arch.Path. 90 : 567 (1970)

31) BRUNNER,G. et al.:

Untersuchungen über die Wirkung von Azathioprin, Cholinorotat und Phenobarbital auf Enzyme des endoplasmatischen Reticulum und Mitochondrien der Rattenleber. Naunyn-Schmiedebergs Arch. Pharm. 274 : 325 (1972)

32) VAN VROONHOVEN,Th.J., MALT,R.A.:

Rebound hyperplasia of regenerating liver after cessation of azathioprine. Surg.For. 22 : 339 (1971)

33) MALAMUD,D. et al.:

Inhibition of cell proliferation by azathioprine. Canc. Res. 32 : 1226 (1972)

34) PAGE,A.R. et al.:

Clinical studies on the antiinflammatory activity of 6-mercaptopurine. Blood 2o : 118 (1962)

35) ELION,G.B. et al.:

Experimental, clinical and metabolic studies of thiopurines. Canc. Chemother.Rep. 16 : 64o (1962)

36) ULLBERG,S.:

Studies on the distribution and fate of ^{35}S-labeled benzylpenicillin in the body.
Acta Radiol. (Stockh.) 118, (1954)

37) The Rat in Laboratory Investigation.

ed. by E.J. Farris and J.Q. Griffith. J.B.Lippincott Co., Philadelphia, London, Montreal 2nd ed. pp 29o, 41o - 411 (1949)

38) BÄR,U. BECKER,H. et al.:

Akkumulation von Azathioprin bei chronischen Lebererkrankungen? Klin.Arzt 2, 7/73 : 33 (1973)

Frau Professor Dr. med. I. Schlicht danke ich für die Überlassung des Themas, für den persönlichen Einsatz zur Bereitstellung von Material und Einrichtungen, für die wertvollen Anregungen zur Methodik und für die Hilfe in der Gestaltung der Arbeit.

Außerdem danke ich Frl. Ch. Eulenstedt und Frl. I. Schultz für ihre unschätzbare Hilfe im Anlernen in die spezielle Methodik und für ihre Beratung und praktische Hilfe in der Vorbereitung und Durchführung der Versuche.

Frl. I. Roßberg danke ich für das Zeichnen der Diagramme und Frl. v. Schack für die Negativablichtungen und Vergrößerungen der Ganzkörperautoradiographien.

L e b e n s l a u f

Als zweites Kind des Diplom-Ingenieurs Herbert Fiege und seiner Ehefrau Kaethe, geborene Marz, wurde ich, Ute Kapteina, geb. Fiege, am 5.5.1942 in Berlin geboren.

Am 16. August 1974 heiratete ich den Medizinal-assistenten Friedrich-Wilhelm Kapteina.

Von 1949 bis 1962 besuchte ich Grund- und Oberschule in Travemünde, Lübeck, Hamburg und Los Angeles und San Diego (USA). Am 1o.3.1962 legte ich das Abitur an der Helene Lange Schule in Hamburg ab.

Das Studium der Medizin begann ich 1962 an der Universität Hamburg. 1966 setzte ich die Ausbildung an der Freien Universität Berlin fort und bestand hier die ärztliche Hauptprüfung am 28.8.1969. Die Prüfung vor der Educational Council for Foreign Medical Graduates legte ich 197o erfolgreich ab. Die Approbation erhielt ich am 4.8.1971.

Als Medizinalassistentin arbeitete ich von 1969 bis 1971 auf einer psychiatrisch-neurologischen, einer internen und einer chirurgischen Abteilung in Berlin. Als Assistenzärztin war ich tätig von 1971 bis 1973 auf der chirurgischen Wachstation des Städt. Krankenhauses Moabit, Berlin, von 1973 bis 1974 in der Anästhesie-Abteilung des Kreiskrankenhauses Goslar und von 1974 bis 1975 in der Anästhesie-Abteilung des Städt. Krankenhauses Wilmersdorf, Berlin. Seit dem 1.4.1975 setze ich die Ausbildung zur Fachärztin für Anästhesie im Klinikum Westend der Freien Universität Berlin fort.

B. Ladewig - Dissertationsdruck - 1 Berlin 12 - Pestalozzistraße 106
Tel.: 3128885 - 3138198